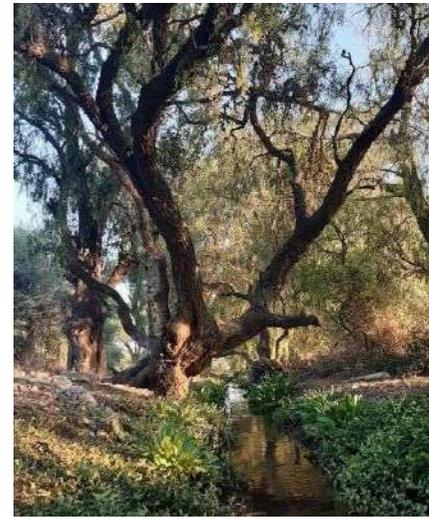




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

# **XIII**

**FORO DE**  
**INVESTIGACIÓN Y**  
**POSGRADO**  
**2021**





**DIRECTORIO**

Dra. Margarita Teresa De Jesús García Gasca  
Rectora

Dr. Javier Ávila Morales  
Secretario Académico

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de Investigación y Posgrado

Dra. C.S. Juana Elizabeth Elton Puente  
Directora FCN

M. en G. Hugo Luna Soria  
Secretario Académico

Dr. Carlos A. López González  
Jefe de Investigación y Posgrado

Recopilador:  
Dr. Carlos A. López González

Fotografía:  
Esteban Cornell

Diseño Editorial  
José Ramón Montijo González

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales,  
Av. De Las Ciencias S/N, Juriquilla, Qro.  
Primera Edición, 2021 Querétaro, México.

D.R. Facultad de Ciencias Naturales

Se prohíbe la reproducción parcial o total de esta obra-Por cualquier medio- Sin el permiso Previo y por escrito del recopilador.

*Impreso en México/Printed in Mexico.*

# Presentación

---

La pandemia del Coronavirus SARS-Cov2 ha generado una gran cantidad de reacciones en el mundo, para las cuales no estábamos preparados. Una de las actividades que se vio afectada por la incertidumbre que se comenzó a vivir en marzo del 2020, fue la realización del Foro de Investigación y Posgrado de la Facultad de Ciencias Naturales, el cual tuvo que ser suspendido en el primer año de la pandemia.

Sin embargo, en 2021, como respuesta a la gran cantidad de actividades virtuales que se comenzaron a implementar, el Foro de Investigación y Posgrado de la FCN se adaptó a las condiciones propias del encierro que estábamos viviendo. La diversidad de tecnologías, aunque existentes, tuvieron un auge en su desarrollo y versatilidad para permitir la impartición de clases virtuales e hizo que innováramos este Foro en nuestra Facultad; esta innovación permitió que el Foro fuera completamente virtual. Decidimos que las ponencias del evento se presentarían durante tres días separados, lo cual facilitó que mucha gente participara y evitó que se sintiera abrumada al tener que asistir de modo continuo, lo cual favoreció que los interesados asistieran en distintas sesiones. Entre los cambios más importantes que llevamos a cabo fue el contar con ponentes con un amplio renombre internacional, que en una sesión presencial hubiera sido prácticamente imposible tener. La participación de dichos ponentes hizo que el Foro fuera más atractivo y dinámico para estudiantes de Licenciatura, Posgrado y los mismos docentes de nuestra Facultad.

Considero que el Foro brindó una nueva serie de oportunidades, incluyendo la participación, no solo de estudiantes de Posgrado, sino que estuvo abierto a las diferentes licenciaturas que se imparten en nuestra Facultad, donde los estudiantes pudieron integrarse como asistentes oponentes.

**Dr. Carlos Alberto López González**

*Jefe de Investigación y Posgrado*

# Agradecimientos

---

El libro de resúmenes en extenso no hubiera sido posible de llevar a cabo sin la contribución de los coordinadores de Posgrado, y el trabajo en conjunto de estudiantes y ponentes.

Dra. Gabriela Aguilar Tipacamú

(Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable)

Dra. Mahinda Martínez y Díaz de Salas

(Maestría en Ciencias Biológicas)

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

(Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana)

MNC Oscar Martínez González

(Maestría en Nutrición Clínica Integral)

M. en GIC. José Carlos Dorantes Castro

(Maestría en Gestión Integrada de Cuencas)

Dra. Olga P. García Obregón

Dr. Carlos A. López González

(Doctorado en Ciencias Biológicas)

Dra. M. Araceli Anaya Loyola

(Especialidad en Nutrición, Activación Física y Salud)

Dr. Héctor R. Vera Ávila

(Especialidad en Nutrición y Reproducción de Ovinos y Caprinos)

# ¡Muchas *gracias!*

Por su participación en el XIII Forode Investigación y Posgradode la  
Facultad de Ciencias Naturales

Quiero agradecer de modo personal a Sarahim Paz Duran y Rosal-  
ba N. Torres Rangel por su apoyo durante la edición del presente  
libro de resúmenes.

## Reconocimiento

El contenido de los trabajos recopilados en este volumen es  
responsabilidad exclusiva de sus autores, los trabajos que a  
continuación se presentan no fueron sometidos a un proceso de  
revisión por pares.

Contenido

## Contenido

---

Valor predictivo prequirúrgico de morbilidad del índice de pronóstico nutricional adaptado (IPN) vs IPN original y Onodera, en pacientes con tumores sólidos del tracto digestivo candidatos a cirugía oncológica electiva.

---

**10**

Recubrimiento de BCG con Quitosano para utilización en Vacuna Contra la Tuberculosis Bovina en un Modelo Caprino

---

**20**

Estimación de parámetros genéticos para características de leche en un sistema de ordeño robotizado en vacas Holstein

---

**28**

Asociación de marcadores endocrinos con la composición corporal en nadadores máster con entrenamientos sistemáticos

---

**36**

Expresión heteróloga del sistema Killer de *Saccharomyces cerevisiae* en líneas celulares de mamífero

---

**42**

Evaluación de la eficacia de un extracto de sustancias húmicas como promotor de crecimiento noantibiótico y su efecto antioxidante para incrementar la producción de carne de pollo

---

**49**

La expresión de mi R-378 en tejido adiposo visceral humano se asocia con resistencia a la insulina.

---

**58**

Asociación entre el cronotipo y factores de riesgo asociados al síndrome metabólico en jóvenes universitarios

---

**64**

Análisis biofísico y de la calidad de inclusión en planes urbanos, de servicios ecosistémicos urbanos relacionados con la cobertura vegetal y el control de escorrentía, dentro de la microcuenca Colinas de Santa Cruz en el municipio de Querétaro

---

**72**

Comportamiento productivo y morfofisiología gastrointestinal en conejos alimentados con diferentes niveles de microalga.

---

**89**

Concentrado de proteína de papa en la dieta de lechones y sus efectos sobre algunos indicadores de la salud intestinal

---

**89**

Pérdida del potencial de membrana mitocondrial por acción de la Casiopeína® IIIa en células deneuroblastoma

---

**97**

Evaluación de composición corporal y ángulo de fase en mujeres con diagnóstico de hipotiroidismo clínico

---

**105**

Evaluación de Marcadores de Inflamación y Sistemas Antioxidantes en Saliva de Lactantes y Leche Materna

---

**113**

Elaboración de protocolos de propagación de plantas con valor socio-ecológico del Área Natural Protegida El Batán, en la microcuenca Joaquín Herrera, Corregidora, Qro.

---

**120**

Procesos de purificación de la proteína quimérica CHPV1.9 de Babesia bigemina.

---

**128**

Presencia de epítomos B conservados de la proteína GP-45 de Babesia bigemina en diferentes zonas geográficas de México

---

**135**

Factores determinantes para la obtención de la toxina K1 de Saccharomyces cerevisiae

---

**142**

Ganadería de precisión: posibles factores para considerar al establecer periodos de espera voluntarios

---

**150**

Análisis del efecto de la hiperprolactinemia inducida por levosulpirida sobre la progresión del edema macular diabético

---

**156**

Análisis de la composición y efecto del consumo de hoja de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en ratas Wistar con obesidad y/o diabetes mellitus

---

**164**

Análisis Espacial y Zonificación Agroecológica en la Cuenca La Cañada, Querétaro

---

**172**

Diseño de una Aplicación Móvil en caminata a la Promoción y Establecimiento de la Lactancia Materna

---

**181**

Estudio de los sitios blanco de la toxina Killer (K1) de *Saccharomyces cerevisiae* en el canal de potasio Tok1

---

**188**

Evaluación de indicadores antropométricos y consumo dietético como predictores de riesgo cardiovascular en varones de 19-50 años con sobrepeso u obesidad

---

**196**

Análisis transcriptómico de la regeneración de *Lumbriculus variegatus*

---

**202**

Efecto del resveratrol en marcadores glucémicos y de inflamación en pacientes con diabetes mellitus

---

**208**

Desarrollo y validación de materiales educativos multimedia enfocados en la mejorar la alimentación de familias mexicanas

---

**214**

Análisis de susceptibilidad a inundaciones asociado a los cambios de uso de suelo en la microcuenca San José el Alto, Querétaro

---

**222**

Efecto del uso conjunto de plasma seminal bovino y extracto antioxidante de nopal como aditivo para la congelación de espermatozoides de cerdos

---

**229**

Análisis de la Estacionalidad de ovejas BlackBelly, Romanov y EastFriesian en la comunidad de Amazcala, El Marqués, Qro.

---

**234**

Evaluación de variables edáficas y dasométricas para la integración de plan de manejo del bosque de pino piñonero en la cuenca norte del Pinal de Zamorano

---

**236**

Expresión de genes asociados a respuestas citotóxicas y tolerantes en la transformación genital pre-oncogénica del lobo marino de California

---

**239**

Propuesta de manejo del agua para la actividad agrícola en la microcuenca Fuentezuelas, Tequisquiapan, Querétaro

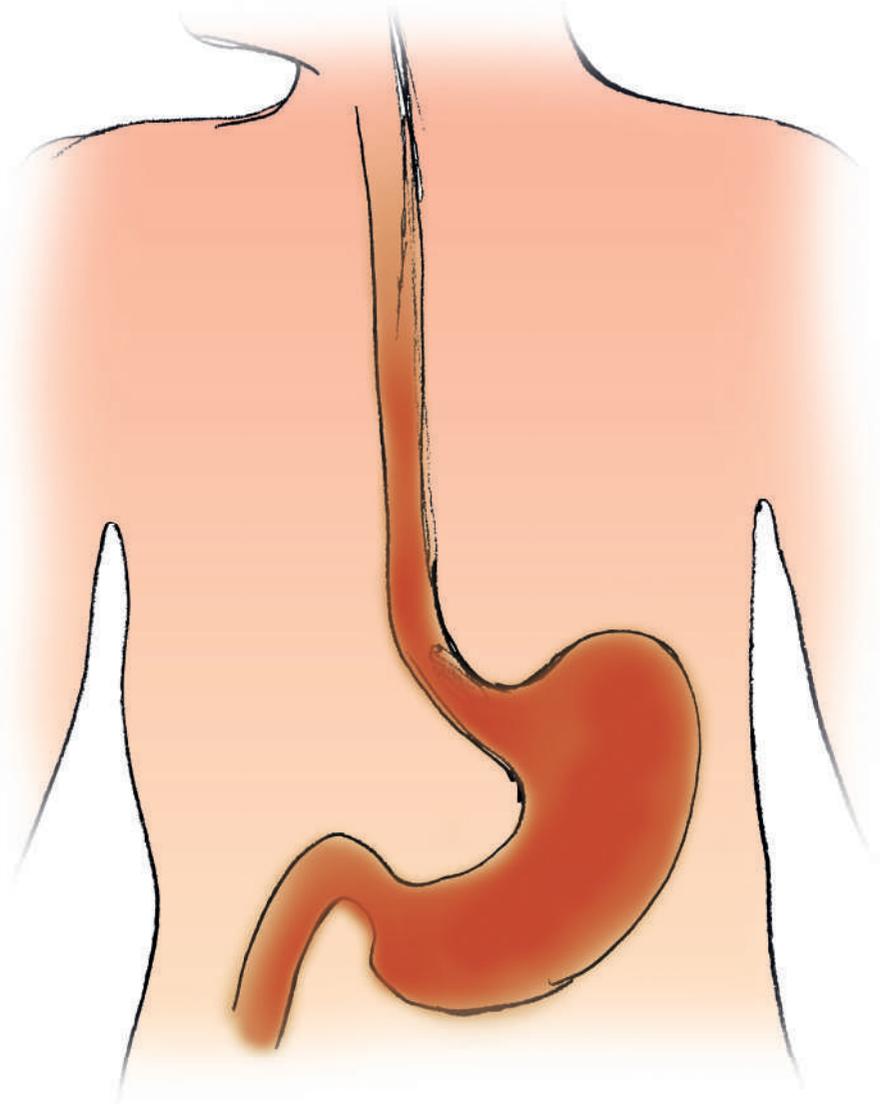
---

**241**

# Valor predictivo prequirúrgico de morbilidad y mortalidad del índice de pronóstico nutricional adaptado (IPN) vs IPN original y Onodera, en pacientes con tumores sólidos del tracto digestivo candidatos a cirugía oncológica electiva.

*Bárcenas-Bañuelos, D., Robles-Osorio, M.L.,*  
Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

*Leyva-Islas J.A.*  
Departamento de Apoyo Metabólico y Nutrición del  
Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos  
ISSSTE Ciudad de México.



# Introducción

Según el INEGI 2018, en México 3 de cada 10 muertes por cáncer en la población de 30 a 59 años, son consecuencia del cáncer en órganos digestivos. Para la población de 60 y más años, de 2011 a 2016, cuatro de cada 10 defunciones por cáncer en mujeres se deben a tumores en órganos digestivos, contra tres de cada 10 en varones, por la misma causa (INEGI, 2018). Los tumores que afectan al tracto digestivo independientemente de su naturaleza histopatológica por sí mismos pueden generar cuadros de desnutrición desde el inicio de la enfermedad, existen factores asociados al estado nutricional que juegan un papel clave en el desenlace y resultados de los pacientes (Misiak y Kruczyk, 2014). En el presente estudio se propone una herramienta útil, confiable y con aplicabilidad clínica que nos auxilie en la detección de individuos con riesgo de desarrollar complicaciones postquirúrgicas asociadas a desnutrición en el paciente que será intervenido onco-quirúrgicamente. Los pacientes que padecen cáncer tienen un mayor riesgo de complicaciones cuando experimentan desnutrición. El cáncer generalmente se trata con cirugía, sin embargo, los procedimientos quirúrgicos pueden provocar complicaciones, a veces más de una, como hemorragias, seromas, deshiscencia, infecciones, cicatrices hipertróficas y queloides y eventraciones (Mudarra, Naranjo et al., 2019). En la actualidad y en nuestro contexto el IPN original es una herramienta difícil de aplicar pues la prueba de sensibilidad cutánea retardada (PSCR) difícilmente se puede aplicar debido a que no es un test que se aplique de forma rutinaria en pa-

cientes quirúrgicos. El presente trabajo busca retomar los trabajos que validaron el modelo predictivo y sustituir la (PSCR) por el recuento de linfocitos (#L), ya que durante el proceso de validación estadística el (#L) fue tomado en cuenta sin embargo para esa población resultó correlacionar mejor la PSCR por lo que el presente estudio pretende poner a prueba el mismo IPN con la siguiente adaptación:  $IPN = 158 - 16.6 * (Albúmina, ALB) - 0.78 * (Pliegue\ cutáneo\ tricipital, PCT) - 20 * (Transferrina) - 5.8 * (Recuento\ total\ de\ linfocitos, \#L)$ , siendo el IPN el porcentaje de riesgo de que ocurra en un individuo alguna complicación, la ALB estará dada en g/dl, PCT en mm, TSF en mg/dl, #L calificado como 0 ( $<0.8 \cdot 10^3$  cel), 1 ( $0.8 - 1.2 \cdot 10^3$  cel) o 2 ( $>1.2 \cdot 10^3$  cel.) bajo el entendido de que el recuento total de linfocitos es una variable que podría ser equiparable a la PSCR y que es indicativo de la respuesta inmune del individuo (Buzby et. al. 1981).

## Metodología

La hipótesis del presente estudio es que: el (IPN) adaptado con el recuento de linfocitos es una herramienta capaz de identificar el riesgo alto de morbimortalidad con una sensibilidad  $\geq 85\%$  y especificidad  $\geq 75\%$  en pacientes con tumores sólidos del tracto gastrointestinal candidatos a cirugía electiva. El objetivo es evaluar el desempeño predictivo de tres índices pronósticos nutricionales en cuanto al desarrollo de complicaciones postquirúrgicas y supervivencia a 30 días, en pacientes con diagnóstico de tumores sólidos del tracto gastrointestinal candidatos a cirugía electiva. El presente estudio

es un estudio descriptivo, observacional que se realizó en el Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos perteneciente al ISSSTE en la Ciudad de México de agosto del 2020 a julio del 2021. Se realizó en pacientes con diagnóstico de tumores sólidos del tracto gastrointestinal intervenidos de cirugía oncológica electiva, los pacientes en quienes se realizaron cirugías de urgencia, que presentaron enfermedad hepática crónica Child Pugh C, enfermedad renal crónica con TFG < 30 ml/min/1.73, que hayan recibido quimio y/o radioterapia 6 semanas o menos, previo a la cirugía y que presentaron procesos infecciosos activos 15 días previos a la cirugía fueron excluidos del estudio. Fue aprobado por el Comité de Ética en investigación perteneciente al hospital en mayo del 2020, siguiendo todos los principios éticos y de protección y las pautas de confidencialidad.

## Técnicas y Procedimientos.

Se recopilaron variables preoperatorias que pueden influir en el desarrollo de complicaciones preoperatorias como la edad, el sexo, factores de riesgo como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial sistémica, enfermedad renal y hepática crónica, dislipidemias, enfermedades autoinmunes y se registró también la presencia o ausencia de haber recibido tratamiento oncológico médico (radio y/o quimioterapia), como parte de las variables antropométricas se tomaron las siguientes medidas; peso habitual (PH), peso actual (PA),

porcentaje de pérdida de peso y los meses en que se presentó, talla, circunferencia media de brazo y el pliegue cutáneo tricípital, se calculó el índice de masa corporal (IMC), todas las anteriores mediciones se tomaron con base en los lineamientos de la Sociedad Internacional para el avance de la Cineantropometría (ISAK). En cuanto a las variables bioquímicas se tomó una muestra de sangre periférica por parte un flebotomista adscrito al laboratorio del hospital para determinar los niveles séricos de albúmina, transferrina, recuento de linfocitos. Además, se solicitó al servicio de Medicina Preventiva del hospital aplicar una prueba de sensibilidad cutánea retardada para tuberculosis al menos 72 horas previo a la cirugía, así como su interpretación, tal procedimiento fue realizado por una enfermera con experiencia en este procedimiento.

Previo a la cirugía se calcularon los tres índices de pronóstico nutricional para el IPN original se sustituyó de la siguiente forma IPN (%) :  $158 - 16.6 * (\text{Albúmina, ALB}) - 0.78 * (\text{Pliegue cutáneo tricípital, PCT}) - 0.2 * (\text{Transferrina, TSF}) - 5.8 * (\text{Prueba de sensibilidad cutánea retardada, PSCR})$ , siendo el IPN el porcentaje de riesgo de que ocurra en un individuo alguna complicación, la ALB estará dada en g/dl, PCT en mm, TSF en mg/dl, PSCR se calificó de acuerdo a la calificación que se obtuvo al aplicar el antígeno para tuberculosis calificado como 0 (no reactivo), 1 (<5 mm de induración) o 2 (≥ 5 mm de induración), así mismo se definieron los puntos de cohorte para establecer parámetros de riesgo, resultando los siguientes porcentajes como referencia: Riesgo Bajo < 40, Riesgo Inter-

medio: 40-49 y Riesgo Alto:  $\geq 50$ . El IPN adaptado con el recuento de linfocitos se calculó con la siguiente ecuación; IPN # linfocitos (#L) (%):  $158-16.6*(ALB)-0.78$

$*(PCT)-0.2*(TSF)- 5.8*(\# L)$ ; el recuento de linfocitos está calificado como 0 ( $<0.8 \times 10^3$  cel), 1 ( $0.8- 1.2 \times 10^3$  cel) o 2 ( $>1.2 \times 10^3$  cel.) y los puntos de cohorte corresponden a los mismos que a la ecuación original. En el IPN de Onodera se sustituyó con la siguiente ecuación; (IPNO) =  $([ALB*10] + [0.005*(\#L)$  en células/ $\mu L]$ ), los puntos de cohorte para estadificar el riesgo nutricio fueron los siguientes, Riesgo Bajo  $>45$ , Riesgo Intermedio =  $40-45$ , Riesgo Alto  $<40$  (Onodera et. al. 1984). Para la determinación del peso y talla se utilizó la báscula mecánica con altímetro propiedad del hospital, el pliegue cutáneo tricipital se determinó utilizando una cinta métrica marca Lufkin y un pliómetro de la marca Harpended, el porcentaje de pérdida de peso se determinó con la siguientes fórmula  $(PH-PA)*100/PH$ , en cuanto al método por el cual se determinaron las variables necesarias para el cálculo de los IPN; la albúmina fue determinada mediante fotometría, transferrina por inmunonefelometría, el recuento de linfocitos por el método de determinación por citometría de flujo fluorescente, la prueba de sensibilidad cutánea retardada (antígenos paratuberculosis. Las complicaciones postquirúrgicas fueron cuidadosamente registradas durante los siguientes 30 días postquirúrgicos. Para el análisis estadístico del presente estudio se presentan medias, rango mínimo y máximo, desviación estándar de las variables primarias utilizadas para el cálculo de los IPN y el porcentaje de complicaciones ajustadas por cada IPN y grupos de riesgo.

## Resultados y Discusión

Hasta la fecha 25 pacientes han sido incluidos en el estudio, las características de los individuos son las siguientes; la edad media es de 64.7 años, el 44% son hombres y el 56% mujeres, el 40% refirieron padecer diabetes mellitus tipo II (DM II), el 28% hipertensión arterial, 12% enfermedades autoinmunes, 20% recibió quimioterapia previo a la cirugía, 4% radioterapia y la combinación de éstas un 12%, la localización del tumor primario se comportó de la siguiente manera: 28% tumores de páncreas, 24% gástricos, 8% esofágicos y un 40%.

Se calcularon las medias, valor mínimo, valor máximo y desviación estándar de los parámetros antropométricos; porcentaje de pérdida de peso, tiempo de pérdida de peso en meses, IMC, circunferencia de brazo y pliegue cutáneo tricipital y se estadificaron según el riesgo (leve, moderado, alto) para cada IPN los resultados se describen el cuadro 1 y 2.

**Cuadro 1. Variables Antropométricas ajustadas para el IPN Onodera.**

IPN Onodera	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
<i>Riesgo Alto</i>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25	15.9	29.7	21.8	3.3
Pérdida de peso (%)	25	-6.7	43.5	20.6	9.8
Tiempo de la pérdida (meses)	25	2.0	12.0	5.8	3.1
Pliegue cutáneo tricipital (mm)	25	4.0	18.0	10.0	4.3
Circunferencia de brazo (cm)	25	14.0	30.0	23.5	4.2

**Cuadro 2. Variables Antropométricas ajustadas para el IPN original y adaptado.**

IPN original y adaptado	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
<i>Riesgo Bajo</i>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	1	29.74	29.74	29.74	-
Pérdida de peso (%).	1	22.3	22.3	22.3	-
Tiempo de la pérdida de peso (meses)	1	6.0	6.0	6.0	-
Pliegue cutáneo tricipital (mm)	1	18.0	18.0	18.0	-
Circunferencia de Brazo (cm)	1	30.0	30.0	30.0	-
<i>Riesgo Moderado</i>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	5	20.78	25.0	22.3	1.5
Pérdida de peso (%).	5	-6.7	22.6	11.9	11.7
Tiempo de la pérdida de peso (meses)	5	4.0	12.0	6.4	3.2
Pliegue cutáneo tricipital (mm)	5	8.0	18.0	12.6	3.7
Circunferencia de Brazo (cm)	5	20.0	23.6	23.6	3.2
<i>Riesgo Alto</i>					
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	19	15.98	26.2	21.2	3.1
Pérdida de peso (%).	19	9.8	43.5	22.8	8.5
Tiempo de la pérdida de peso (meses)	19	2.0	12.0	5.7	3.2
Pliegue cutáneo tricipital (mm)	19	4.0	18.0	9.0	3.9
Circunferencia de Brazo (cm)	19	14.0	29.5	23.1	4.4

Además, se calcularon las medias, valor mínimo, máximo y desviación estándar de los valores séricos de (ALB), (TSF) y (#L), así como los milímetros de induración de la (PSCR) para

tuberculosis y se agrupo por subgrupo de riesgo para cada IPN como se describe en cuadro 3 y 4.

**Cuadro 3. Variables bioquímicas ajustadas al IPN original y adaptado.**

IPN Original y Adaptado	N	Minino	Máximo	Media	DS
<i>Riesgo Bajo</i>	1				
Albúmina (g/dl)	1	3.4	3.4	3.4	-
Transferrina (mg/dl)	1	188.0	188.0	188.0	-
Linfocitos (#)	1	1.25	1.25	1.25	-
PSCR (mm)	1	8.0	8.0	8.0	-
<i>Riesgo Moderado</i>					
Albúmina (g/dl)	5	2.8	3.2	2.9	0.18
Transferrina (mg/dl)	5	155.0	181.0	169.2	10.8
Linfocitos (#)	5	0.99	3.3	1.8	0.94
PSCR de induración (mm)	5	4.0	8.0	5.8	2.0
<i>Riesgo Alto</i>					
Albúmina (g/dl)	19	1.7	3.2	2.3	0.44
Transferrina (mg/dl)	19	59.0	208.0	118.6	39.69
Linfocitos (#)	19	0.45	1.5	0.92	0.28
PSCR de induración (mm)	19	0.0	5.0	0.93	1.86

**Cuadro 4. Variables bioquímicas al IPN Onodera.**

IPN Onodera	N	Mínimo	Máximo	DS
<i>Riesgo Alto</i>	25			
Albúmina (g/dl)	25	1.70	3.4	0.50
Transferrina(mg/dl)	25	59.0	208	41.96
Linfocitos (#)	25	0.45	3.30	0.59
PSCR (mm)	25	0.0	8.0	2.95

Los resultados preliminares en cuanto al desarrollo de complicaciones se describen de manera gráfica y clara a continuación en el cuadro 5 y 6.

**Cuadro 5. Porcentaje de complicaciones postquirúrgicas detectadas por el IPN Onodera.**

IPN Onodera	Complicaciones	N	Complica- ciones %
Riesgo Alto			
	Sepsis	25	36.0
	Sepsis Abdominal	25	40.0
	Fistulas	25	36.0
	Infeccion de vías urinarias	25	0
	Neumonía	25	20.0
	Dehiscencia	25	28.0
	Falla Cardiaca	25	8.0
	Evento Cerebral Cardiovascular	25	0
	Falla Respiratoria	25	16.0
	Choque hipovolémico	25	64.0
	Muerte	25	52.0



**Cuadro 6. Porcentaje de complicaciones postquirúrgicas detectadas por el IPN original y adaptado.**

IPN original y Adaptado	Complicaciones	N	Complicaciones %
<b>Riesgo Bajo</b>			
	Sepsis	1	100
	Sepsis Abdominal	1	100
	Fistulas	1	0
	Infeccion de vías urinarias	1	0
	Neumonía	1	0
	Dehiscencia	1	0
	Falla cardiaca	1	0
	Evento cerebral cardiovascular	1	0
	Falla Respiratoria	1	0
	Choque hipovolémico	1	0
	Muerte	1	0
<b>Riesgo Moderado</b>			
	Sepsis	5	40.0
	Sepsis Abdominal	5	20.0
	Fistulas	5	40.0
	Infeccion de vías urinarias	5	0
	Neumonía	5	0
	Dehiscencia	5	40.0
	Falla cardiaca	5	0
	Evento cerebral cardiovascular	5	0
	Falla Respiratoria	5	0
	Choque hipovolémico	5	40.0
	Muerte	5	20.0
<b>Riesgo Alto</b>			
	Sepsis	19	31.6
	Sepsis Abdominal	19	42.1
	Fistulas	19	36.8
	Infeccion de vías urinarias	19	0
	Neumonía	19	26.3
	Dehiscencia	19	26.3
	Falla cardiaca	19	10.5
	Evento cerebral cardiovascular	19	0
	Falla Respiratoria	19	21.1
	Choque hipovolémico	19	73.7
	Muerte	19	63.2

## Discusión

El presente estudio identificó de manera uniforme a aquellos pacientes con riesgo alto de desarrollar complicaciones postquirúrgicas tal y como también lo reportan (Borda, Miranda, et al., 2017) en un estudio retrospectivo realizado en España con pacientes de cáncer gástrico en el que se utilizó el IPN Onodera y el cual evaluó el riesgo de dehiscencia, infecciones, sangrado y fistulas postquirúrgicas y el cual concluyó que el 38% de los pacientes que desarrollaron complicaciones obtuvieron un IPN  $<45$  y el 13% de los que no desarrollaron complicaciones obtuvieron un IPN  $>45$ . En un metaanálisis que realizaron (Yang, Gao et al., 2016) también concluyeron que El IPN fue un indicador predictivo de supervivencia y complicaciones postoperatorias, y se asoció con características clínico-patológicas en pacientes con cáncergástrico. Sin embargo, un IPN bajo no se asoció significativamente con una supervivencia general pobre en pacientes con cáncer gástrico en el estadio IV, éste ultimo resultado fue parecido a los resultados preliminares del presente estudio. En otro estudio realizado en Japón por Japón (Shi & Zhang, 2019), las conclusiones fueron las siguientes El IPN Onodera  $\geq 43$  preoperatorio fue un mejor factor pronóstico independiente para la supervivencia. Asimismo, en uno de los pocos estudios prospectivos que existen (Bailon & Cuadrado., et al., 2018). El IPN mostró ser un factor predictivo independiente para el desarrollo de complicaciones tras la cirugía curativa del cáncer colorrectal. En nuestro país (Luvian, Gonzalez, Sagrario et al, 2019) refieren que el

PNI Onodera es un factor pronóstico significativo e independiente en pacientes con Cáncer Colorrectal para pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. Cabe mencionar que existen variables que son determinantes en el desarrollo de complicaciones postquirúrgicas y que no necesariamente se asocian al estado nutricional y/o inflamatorio, tal es el caso de una de nuestras pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico en células en anillo de sello quien refirió incluso aumentar un 6.7% de su peso habitual en los últimos 3 meses y quien además obtuvo los siguientes puntajes: IPN Onodera: Riesgo alto, IPN original y adaptado: riesgo moderado y valores séricos de albumina y transferrina aceptables, lamentablemente falleció pues durante el transquirúrgico encontraron márgenes positivos a malignidad lo cual amerito reintervenir dando como resultado una fuga anastomótica del ascenso esófago-yeyuno anastomosis y finalmente la paciente falleció por sepsis. Lo cual nos confirma que existen variables fuera del alcance del estado nutricional y/o estudios con mayor grado de control para poder establecer aseveraciones más concretas.

## Conclusiones

Los resultados en el IPN original y adaptado parecen presentar adecuada concordancia, el IPN Onodera podría sobreestimar la tasa de complicaciones postquirúrgicas y no permite estadificar por grupos de riesgo como si lo permitió el IPN original y adaptado.

# Literatura Citada

- 1.- "Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (2018). *comunicado de prensa núm. 61/18* (págs. 1-2).  
Ciudad de México : INEGI.
- 2.- Misiak, M. & Kruczyk, I. (2014). Severe Undernutrition: Prevalence, Mechanisms, Consequences. *Clin Nutr. ESPENLLL Programme*.
- 3.- Buzby, G., Mullen, J., Matthews, D., Hobbs, C., & Rosato, E. (1980). Prognostic Nutritional Index in Gastrointestinal Surgery. *Am J Surg*, pp 160-165.
- 4.- Onodera, T., Goseky, N., Kosaky, G. (1984) Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery of malnourished cancer patients, extracción del abstract.
- 5.- Mudarra, N., Naranjo, I., Olivarez, S., Riquelme, A., Granizo, J., (2019) Pre-Surgical Nutrition Support Reduces the Incidence of Surgical Wound Complications in Oncological Patients. *Nutr Cancer*, pp1-6
- 6.- Luvian, J., Gonzalez, S., et al., (2019). Association of the prognostic nutritional index and overall survival in patients with colorectal cancer: A STROBE compliant retrospective cohort study. *Cancer Treat Commun*, p.p. 3381- 3385.
- 7.- Bailon, M., Perez, B. et al., (2018). Prognostic Nutritional Index Predicts Morbidity after curative surgery for colorectal cancer. *CirEsp*. p.p. 3-6.
- 8.- Shi, W., & Zhang, X. et al., (2019). Predictive ability of prognostic nutritional index in surgically resected gastrointestinal stromal tumors: a propensity score matching analysis. *Jpn J Clin Oncol*, pp 1-9.
- 9.- Borda, F., Miranda, C., Echeverría, E., Guerra, A., & J.J., I. (2017). Relation between preoperative prognostic Onodera's Index and post-surgery complications in the R0 gastric carcinoma resection. *An Sist Sanit Navar*, pp 69-72.
- 10.- Yang, Y., Gao, P., Song, Y., et al., (2016). The prognostic nutritional index is a predictive indicator of prognosis and postoperative complications in gastric cancer : A meta-analysis. *EJSO*, pp 1-7.

# Recubrimiento de BCG con Quitosano para Utilización en Vacuna Contra la Tuberculosis Bovina en un Modelo Caprino.

## **Contreras-Magallanes, Y.G.**

Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Querétaro. Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México.

## **Sosa-Gallegos, S.L.**

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México.

## **Durán-Aguilar, M.**

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México.

## **Alvarez-Herrera, A.H.**

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y diseño del Estado de Jalisco. Av. Normalistas 800 Col. Colinas de la Normal, Guadalajara, Jalisco, México.

## **Rodríguez-Hernandez, E.**

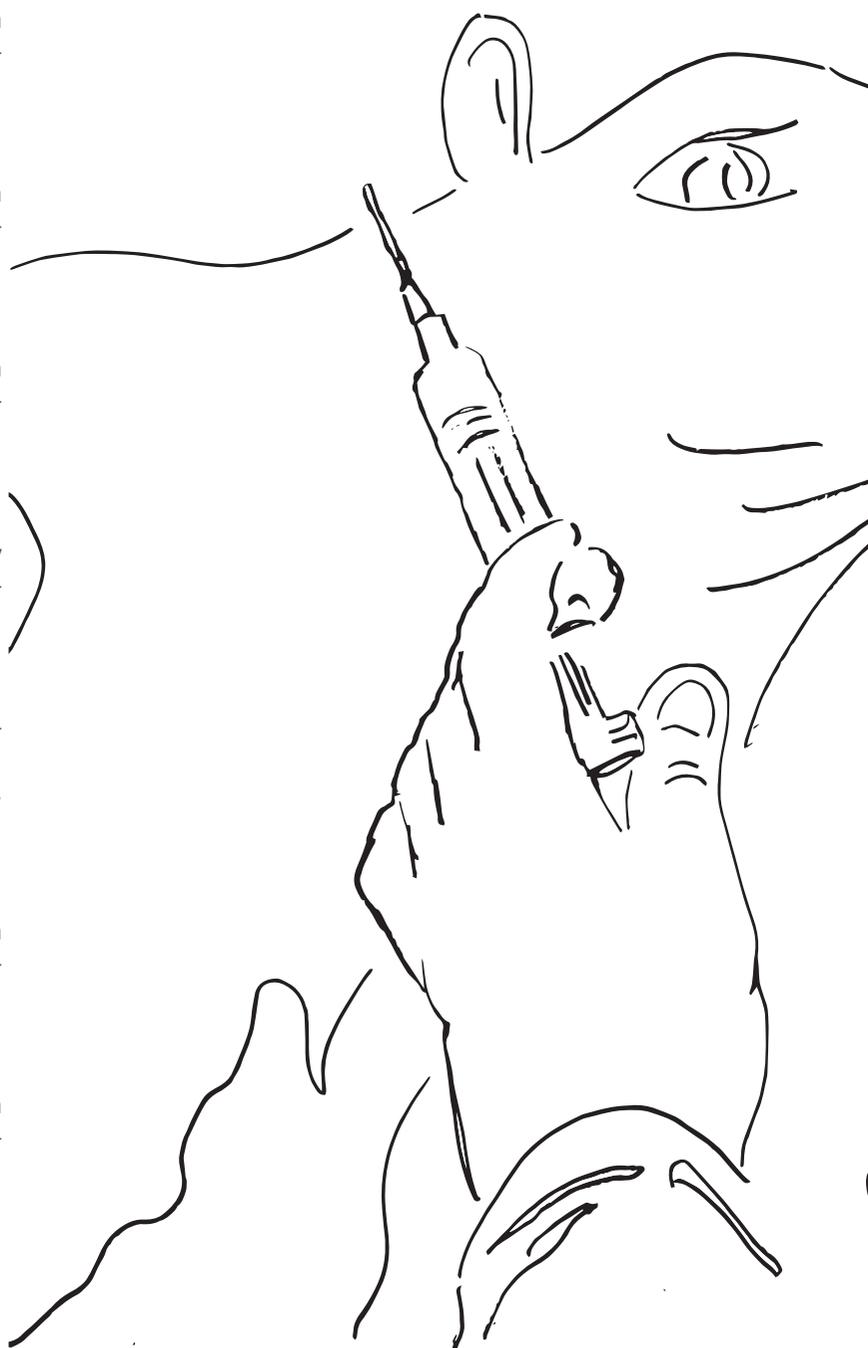
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento animal. INIFAP. SAGARPA. Address: Km. 1 Carretera a Colón, Ajuchitlán, Colón, Querétaro, México.

## **Cantó-Alarcón, G.J.**

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México.

## **Milián-Suazo, F**

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Avenida de las Ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, Querétaro, México.



# Introducción

La tuberculosis bovina (TBb) sigue siendo uno de los problemas más graves de la ganadería en todo el mundo, especialmente en los países en desarrollo, donde la estrategia de “prueba y sacrificio” utilizada por los programas de control local no es totalmente aceptada o es económicamente inviable [1-9]. En la actualidad, el agente vacunal para combatir la TB es el Bacilo Calmette-Guérin (BCG). Esta cepa se ha administrado a personas como vacuna contra la TB desde 1927 y es una de las vacunas humanas más utilizadas en todo el mundo [10].

Los estudios han demostrado que la vacunación contra la TB en ganado bovino reduce la transmisión (no la infección) al reducir el número de animales con lesiones, el número de lesiones por animal, el tamaño de las lesiones y las cargas bacilares tisulares. Se ha informado que la protección es mejor cuando los terneros se vacunan temprano después del nacimiento, de dos a cuatro semanas de edad con 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> UFC, con una posible revacunación entre uno y dos años para mantener niveles adecuados de inmunidad. No se han observado diferencias en la eficacia entre las cepas danesas y Pasteur. La vacuna es segura y no exacerba ni cura la infección.

La debilidad de la vacuna BCG y su eficacia protectora altamente variable en el control de la tuberculosis ha llevado a varias estrategias para desarrollar nuevas vacunas. Una metodología emergente para abordar estos dos inconvenientes es la utilización de adyuvantes

y nanopartículas (NP), que pueden lograr la liberación dirigida y controlada de los antígenos y mejorar la respuesta inmune [12].

Los factores que favorecen la absorción y la fuerte estimulación de la respuesta inmune de las vacunas basadas en quitosano son sus características fisicoquímicas (tamaño, forma, carga superficial, componentes, su hidrofiliidad y lipofilia) [13]. Las propiedades atractivas del quitosano, como su bioadhesión, biocompatibilidad, biodegradabilidad, bajo costo y capacidad de abrir uniones estrechas intercelulares, han llevado a la investigación del quitosano. Las partículas de quitosano han sido ampliamente estudiadas para la administración oral de genes, vacunas y proteínas [14].

El propósito de este estudio fue evaluar diferentes formulaciones de vacunas con BCG solo o con complejos de quitosano mediante un esquema de inmunización subcutáneo y un refuerzo en un modelo de caprino.

# Metodología

Animales experimentales: Se utilizaron 35 cabritos nubios, alpinos y cruza, de entre 2 y 3 meses de edad, procedentes de hatos libres de TB fueron divididos aleatoriamente en 5 grupos.

Grupos				
1	2	3	4	5
Control	BCG	BCG + Refuerzo	BCG+Quitosano + Refuerzo	BCG + Refuerzo con Quitosano

Reactivación de *Mycobacterium bovis* (ATCC® 35744™): El pellet se rehidrató conforme a las especificaciones del ATCC. Pasadas las cuatro semanas se cultivó en medio Stonebrink y Lowenstein Jensen. Seis semanas después se procedió a hacer cultivo en medio líquido. Se tomaron varias colonias del cultivo en medio Lowenstein Jensen y se agregaron en el medio Middlebrook 7H9 + ADC + Tween 80 al 20%, al observarse crecimiento en el medio, este se centrifugó y el pellet bacteriano se agregó a medio Middlebrook 7H9 + ADC + Glicerol. Aproximadamente cuatro semanas después el crecimiento se observó sobre el medio de cultivo. Los cultivos se centrifugaron, se les agregó SPGA y PBS 1x estéril a concentración 1:1 para su separación con aguja 23G.

Separación y cuantificación de bacterias: Para separar las bacterias, se tomó el cultivo y se centrifugó a 3 000 rpm durante 15 minutos, el pellet bacteriano se lavó con NaCl 0.9% para eliminar el medio enriquecido, al pellet bacteriano se le agregó SPGA y PBS 1x a concentración 3:1 y se pasó 25 veces por aguja 23G, se realizó tinción de Ziehl-Neelsen para comprobar la separación de las bacterias. La cuantifi-

cación del número de bacterias por mililitro se realizó por el estándar de turbidez de McFarland, utilizando una curva de cloruro de bario y ácido sulfúrico al 1%, la lectura de la densidad óptica (DO) se realizó a 595 nm. Al tener el resultado de la DO de la cuantificación de interés, se realizaron diluciones 1:10 en agua destilada estéril y se cultivaron en medio Stonebrink para comparar con McFarland.

Preparación de quitosano y recubrimiento de BCG: Para la preparación de la solución de quitosano al 0.001%, se utilizaron 500 mg de quitosano de bajo peso molecular (SIGMA-ALDRICH) y 4.5 g de cloruro de sodio (NaCl) en 500 ml de agua con 5 ml de ácido acético a pH 6; la solución se dejó en agitación magnética por 24 horas, pasado el tiempo se esterilizó por filtración con un filtro de jeringa Nalgene (Thermo Scientific, membrana de acetato de celulosa de 0.2 µm libre de surfactante, carcasa de polipropileno de 25 mm). Para el recubrimiento de BCG se utilizó un medio de cultivo de BCG en Middlebrook 7H9 + ADC + Tween 80 al 20% y se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 min, el pellet se lavó dos veces con NaCl al 0.9%, posteriormente se sonicó en baño maría 10 min,

la solución se pasó por aguja 23G para separar los grumos bacterianos y se agregó la solución de quitosano (0.5 ml/ml) se dejó en agitador orbital durante 20 min, la solución se centrifugó a 10 000 rpm por 10 min y el pellet se lavó dos veces con NaCl al 0.9% y se pasó nuevamente por aguja 23G para separar las bacterias recubiertas. Esta solución bacteriana se agregó a medio de cultivo Middlebrook 7H9 + ADC + Glicerol y se dejó en incubación por seis semanas, hasta su separación y cuantificación para su dosificación.

Viabilidad bacteriana de BCG recubierta con quitosano: Para comprobar que el quitosano no produce muerte de los bacilos se hizo una prueba de viabilidad bacteriana, creciendo BCG y BCG recubierta con quitosano en medio Middlebrook 7H9 + ADC + Glicerol, la lectura de la densidad óptica (DO) se realizó por triplicado cada 24 horas por 11 días, posteriormente cada 48 horas hasta el día 31, al día 31 se tomó muestra del cultivo (100 µl) para microscopia electrónica de barrido.

Desafío: La cepa de desafío *M. bovis* se recogió de un tubérculo en un ganglio linfático de vaca en 2010 y se cultivó en medio Stonebrink y posteriormente se pasó a medio Middlebrook 7H9 + ADC

+ Glicerol. Los bacilos se sedimentaron mediante centrifugación a 10 000 rpm y se lavaron dos veces con una solución salina con fosfato (PBS, 0,01 M, pH 7,2). Luego se homogeneizó en PBS y se pasó 25 veces por aguja 23G, se realizó tinción de Ziehl-Neelsen para comprobar la separación de las bacterias. La

cuantificación del número de bacterias por mililitro se realizó por el estándar de turbidez de McFarland y se diluyó a las dosis establecidas  $1 \times 10^6$  UFC en 3 ml de PBS. Los cabritos se inocularon directamente en la tráquea (23G x 25 mm).

Matanza y características de las lesiones: Aproximadamente seis meses después del desafío, los animales experimentales fueron enviados al matadero para inspección de cadáveres, conteo de lesiones, y recolección de muestras de tejido para análisis microbiológicos. El foco de inspección de la canal en los ganglios linfáticos de la cabeza (retrofaríngeo), torax (mediastínico y traqueobronquial), abdomen (mesentérico), pulmón e hígado. Los animales fueron sacrificados de acuerdo con las recomendaciones de la NORMA Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres, que es el documento legal que rige esta práctica.

## Resultados y Discusión

Viabilidad bacteriana de BCG y BCG + quitosano: Para verificar que el quitosano no causa la muerte de los bacilos de BCG *in vitro*, se realizó una prueba de viabilidad bacteriana. La figura 5

muestra los resultados de esta prueba, la cepa Phipps de BCG alcanzó su fase logarítmica de crecimiento intermedio en el segundo día de incubación, y su fase estacionaria a los tres días, quemantuvo hasta 16 días de incubación. Posteriormente, hubo un aumento en el creci-

miento bacteriano en el día 20 al día 28, que disminuye el día 31. La cepa Phipps de BCG con quitosano alcanzó la fase logarítmica a los ocho días de incubación, y la fase estacionaria a los nueve días, que permanece estable hasta los 12 días, luego hay un aumento en el crecimiento bacteriano hasta el día 26 y luego disminuye. Este resultado muestra que el bacilo BCG sobrevive a pesar de estar cubierto con quitosano con nuestra preparación.

Microscopia electrónica de barrido (SEM) de BCG y BCG + Quitosano: Los cultivos de *M. bovis* se analizaron bajo el microscopio después del día 31 de crecimiento se compararon las bacterias por microscopia de barrido, en la Figura 2a se puede observar la morfología de los bacilos de BCG a 15 000 X, los cuales se observan diferentes morfológicamente a los bacilos que se encuentran recubiertos con quitosano, el quitosano hace que los bacilos se vuelvan más nítidos al ser pasados por el haz de luz (Figura 2b).

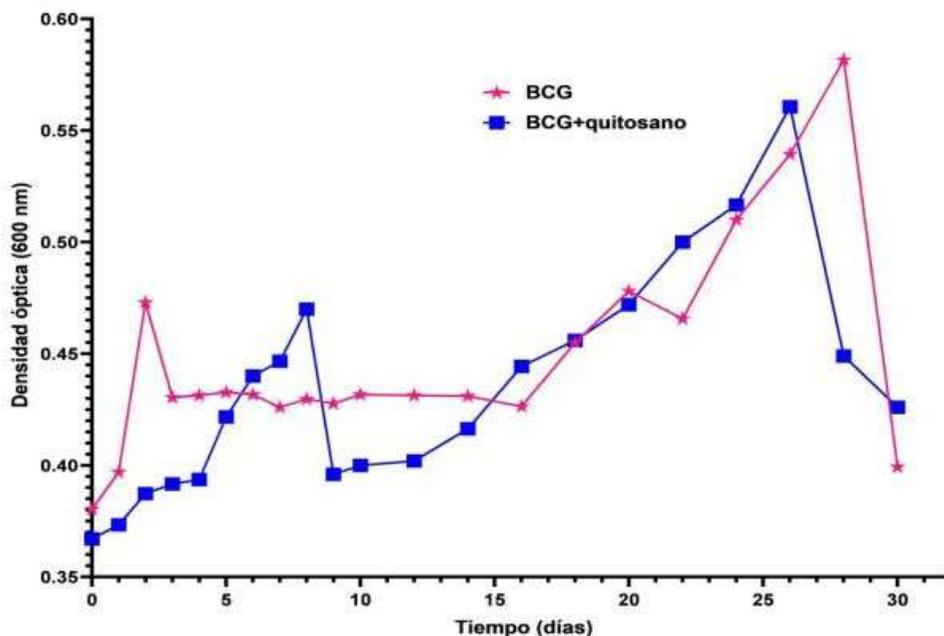


Figura 1. Viabilidad bacteriana de BCG y BCG + quitosano en medio 7H9.

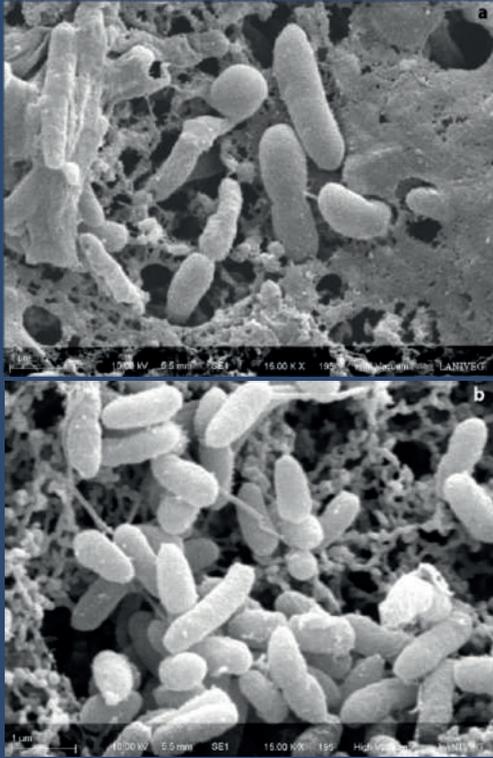


Figura 2. Imágenes SEM de la comparación de BCG sin recubrimiento y BCG recubierto con quitosano en SPGA lavado con PBS en membrana de filtro de 0.22  $\mu\text{m}$  observado a 15,000 X (a) BCG no recubierto, (b) BCG recubierto con quitosano.

La técnica de recubrimiento o formación de esferas y la cantidad de polímero podrían influir en la capacidad de encapsulación, liberación e inmunogenicidad del producto. En nuestros resultados, observamos que el quitosano al 0,001% hace que los bacilos se vuelvan más nítidos cuando pasan a través del haz de luz. El SEM reveló diferencias entre *M. bovis* BCG recubierto y no recubierto, es posible observar que la mayor influencia en la morfología (la presencia de quitosano como biofilm modifica morfológicamente la bacteria, haciéndola más

delgada en comparación con la que no tiene quitosano) de la película se debe a la presencia del quitosano generando cierta adherencia en las películas que se puede apreciar, ya que el quitosano es fácilmente procesable en fibras y películas a partir de una solución acuosa ácida, la presencia del solvente lo modifica, pero eso es un secundario factor. El SEM de los bacilos BCG sin recubrimiento mostró la presencia de seis bacilos con una longitud y un ancho promedio de 1.8 y 0.5  $\mu\text{m}$ . El SEM de los bacilos BCG recubiertos mostró la presencia de seis bacilos con una longitud y un ancho promedio de 1.3 y 0.5  $\mu\text{m}$ . Channarong et al. [15] desarrolló una vacuna de ADN que contiene liposomas recubiertos de quitosano cargados con polyplex (PLL); usando concentraciones de solución de quitosano al 0.05%, 0.1% y 0.2% p / v. Observaron que los tamaños de los liposomas recubiertos aumentaban al disminuir el pH debido a la agregación de las partículas en la formulación. Usamos solo una concentración de solución de quitosano al 0,001% p / v con un pH de 6. Como en nuestro experimento, el SEM de los liposomas recubiertos de quitosano se observa con mayor paso de luz.

**Cuadro 1. Número de animales de cada grupo experimental con lesiones visibles después de la vacunación contra la TB y desafiados con una cepa de tipo salvaje en un modelo de cabra.**

Grupo	Animales con lesiones/animales desafiados	Proporción
1	6/6	100
2	6/7	86
3	5/7	71
4	2/7	28

## Conclusiones

Se demostró que el quitosano mantiene la viabilidad de las bacterias recubiertas sin causar la muerte del bacilo durante 10 meses después del recubrimiento. Esto permitiría mantenerlos almacenados para su uso posterior en vacunación animal o cultivo bacteriano. Conforme a la utilización de la vacuna BCG, solo o recubierto de quitosano, en combinación con refuerzo solo o con quitosano tiene el potencial de reducir la diseminación de la tuberculosis en el ganado al reducir el número de animales con lesiones y el tamaño de las lesiones en los animales infectados. No obstante, para sacar conclusiones sobre la utilidad de la vacuna en poblaciones bovinas, aún están pendientes los ensayos de campo a gran escala en condiciones naturales.

## Literatura citada

1. Buddle BM, Parlane NA, Wedlock DN & Heiser A. Overview of vaccination trials for control of tuberculosis in cattle, wildlife and humans. *Transbound Emerg Dis*. 2013; 60(1): 136-46. DOI: [10.1111/tbed.12092](https://doi.org/10.1111/tbed.12092).
2. Wedlock DN, Denis M, Vordermeier HM, Hewinson RG, Buddle BM. Vaccination of cattle with Danish and Pasteur strains of *Mycobacterium bovis* BCG induce different levels of IFN-gamma post-vaccination, but induce similar levels of protection against bovine tuberculosis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007; 118: 50–58. DOI: [10.1016/j.vetimm.2007.04.005](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.04.005).
3. Hope JC, Thom ML, Villarreal-Ramos B, Vordermeier HM, Hewinson RG & Howard CJ. Vaccination of neonatal calves with *Mycobacterium bovis* BCG induces protection against intranasal challenge with virulent
4. *M. bovis*. *Clinical and Experimental Immunology*. 2005; 139(1): 48-56. DOI: [10.1111/j.1365-2249.2005.02668.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02668.x).
5. Cantó-Alarcón GJ, Rubio-Venegas Y, Bojorquez-Narvaez L, Pizano-Martínez OE, García-Casanova L, Sosa-Gallegos S, et al. Efficacy of a vaccine formula against tuberculosis in cattle. *PLoS One*. 2013; 8(10): e76418. DOI: [10.1371/journal.pone.0076418](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076418).

6. Pérez de Val B, Vidal E, López-Soria S, Marco A, Cervera Z, Martín M, et al. Assessment of safety and interferon gamma response of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine in goats kids and milking goats. *Vaccine*. 2016; 34(7): 881-886. DOI: [10.1016/j.vaccine.2016.01.004](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.01.004).
7. Vidal E, Arrieta-Villegas C, Grasa M, Mercader I, Domingo M & Pérez de Val B. Field evaluation of the efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine against tuberculosis in goats. *BMC Vet Res*. 2017. 13(252). DOI: [10.1186/s12917-017-1182-5](https://doi.org/10.1186/s12917-017-1182-5).
8. Palmer MV, Thacker TC, & Waters WR. Vaccination of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette Guérin. *Vaccine*. 2007; 25(36): 6589-6597. DOI: [10.1016/j.vaccine.2007.06.056](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.06.056)
9. Aldwell F, Keen D, Parlone N, Skinner M, de Lisle G, Buddle B. Oral vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG in a lipid formulation induces resistance to pulmonary tuberculosis in brushtail possums. *Vaccine*. 2003; 22(1): 70-76. DOI: [10.1016/S0264-410X\(03\)00539-5](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(03)00539-5).
10. Chambers MA, Carter SP, Wilson GJ, Jones G, Brown E, Hewinson RG, et al. Vaccination against tuberculosis in badgers and cattle: an overview of the challenges, developments and current research priorities in Great Britain. *Vet Rec*. 2014; 175(4): 90-96. DOI: [10.1136/vr.102581](https://doi.org/10.1136/vr.102581).
11. Chambers MA, Carter SP, Wilson GJ, Jones G, Brown E, Hewinson RG, et al. Vaccination against tuberculosis in badgers and cattle: an overview of the challenges, developments and current research priorities in Great Britain. *Vet Rec*. 2014; 175(4): 90-96. DOI: [10.1136/vr.102581](https://doi.org/10.1136/vr.102581)
12. Wedlock DN, Keen DL, McCarthy AR, Anmdersen P, Buddle BM. Effect of different adjuvants on the immune responses of cattle vaccinated with *Mycobacterium tuberculosis* culture filtrate proteins. *Vet Immunol Immunop*. 2002; 86: 79-88. DOI: [10.1016/S0165-2427\(02\)00017-X](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(02)00017-X)
13. Smith JD, Morton LD & Ulery BD. Nanoparticles as synthetic vaccines. *Curr Opin Biotechnol*. 2015; 34: 217- 224.
14. Khademi F, Taheri RA, Yousefi Avarvand, Vaez H, Momtazi-Borojeni AA & Soleimanpour S. Are chitosan natural polymers suitable as adjuvant/delivery system for antituberculosis vaccines? *Microb Pathog*. 2018;121: 218-223.
15. Lu E, Franzblau S, Onyukel H & Popescu C. Preparation of aminoglycoside-loaded chitosan nanoparticles using dextran sulphate as a counterion. *J Microencapsul*. 2009; 26 (4): 346-54.
16. Channarong S, Chaicumpa W, Sinchaipanid N & Mitrevej A. Development and evaluation of chitosan-coated liposomes for oral DNA vaccine: the improvement of Peyer's patch targeting using a polyplex-loaded liposomes. *AAPS PharmSciTech*. 2011; 12(1):192-200. [doi:10.1208/s12249-010-9559-9](https://doi.org/10.1208/s12249-010-9559-9).

# Estimación de parámetros genéticos para características de leche en un sistema de ordeño robotizado en vacas Holstein

*Cornejo García, NL*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales UAQ.

*Durán Aguilar, M*

Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal INIFAP<sup>3</sup>

*Romano Muñoz, JL*

*Ruiz López, FJ<sup>3</sup>*;

*Cantó Alarcón, GJ*

Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal INIFAP<sup>3</sup>

*Salazar Vázquez, E<sup>2</sup>*

Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal INIFAP



# Resumen

En los últimos años, a la industria lechera le ha interesado la obtención de altos valores de producción de leche (PL), lo que se ha logrado gracias a la combinación y optimización de mejoras en el manejo, nutrición y selección genética (Lucy, 2001). La industria ganadera se enfrenta a grandes desafíos, por lo que la producción pecuaria debe incrementar su eficiencia (Gordard, 2012).

La PL, el flujo de la leche y sólidos lácteos, son el resultado de la interacción entre factores genéticos y medioambientales, dichas características han sido las de mayor importancia económica para los productores lecheros. Para tener evaluaciones genéticas precisas de estas características, es necesario mantener un registro de producción confiable (Soto, 1982; Mago-fke et al., 2001).

Típicamente, los animales con el mérito predicho más alto se conservan para ser los padres de la siguiente generación. Cuando se desea mejorar más de una característica, el mérito puede representarse formalmente mediante una función de los valores genéticos para varias características que se consideren importantes desde el punto de vista de generar ganancias económicas (Gianola, 2001).

La conductividad eléctrica (CE) se define como la capacidad que tiene una solución para conducir la corriente eléctrica, en la leche depende en más del 60% de la cantidad de sales disueltas (Schulz & Sydow, 1957). En caso

de mastitis, se ocasiona un aumento en la concentración de iones de sodio y cloruro, lo que ocasiona un aumento en la CE (Roca, 2017). La medición de la CE se ha utilizado cotidianamente para diagnosticar los problemas de mastitis.

El estudio del flujo de leche durante el ordeño proporciona información útil para mejorar la eficiencia del proceso de ordeño y proteger la salud de la ubre (Sandrucci et al., 2007). Por lo tanto, además de la selección de vacas para una mayor PL, se requiere un flujo de leche concomitantemente mayor para optimizar la duración del ordeño. Sin embargo, Grindal y Hillerton (1991) mencionan que las vacas que se ordeñan más rápido tienen mayor riesgo de infección por mastitis.

El análisis y la evaluación de los datos ya estructurados y organizados nos permiten conocer los parámetros productivos, que son un importante referente para predecir la eficiencia de las vacas del hato y poder llevar a cabo estrategias para disminuir costos y aumentar la rentabilidad del hato. La medición del flujo de leche y CE permitirá la selección de un hato uniforme, lo que podría significar una reducción del costo de producción.

La estimación de parámetros genéticos, como la heredabilidad y la repetibilidad, es un paso fundamental para desarrollar un eficaz programa de selección animal a partir de la predicción de valores genéticos (Utrera, et al., 2010). Con base en lo mencionado anteriormente, este trabajo se realizó con el objetivo de calcular componentes de varianza y correlaciones genéticas entre la PL, FMD, FMx y CE

bajo un sistema de ordeño automatizado y su comparación con los parámetros calculados en otros sistemas de ordeño.

## Metodología

Se trabajó con 110 vacas Holstein de primera lactación, segunda lactación, tercera lactación y cuarta o más lactaciones, en 174 lactaciones de las cuales 63 son de primera lactación, 61 de segunda lactación, 36 de tercera lactación y 14 de cuarta o más lactaciones, con 42,006

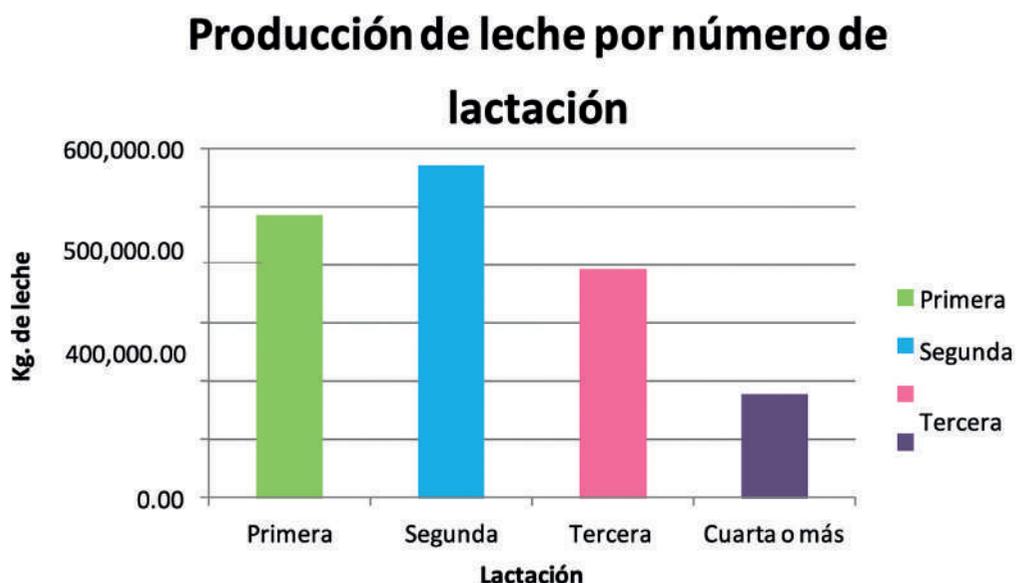
observaciones diarias y una producción total de 1, 619,233.17 Kg. de leche (Grafica 1), localizadas en un rancho en el municipio del Marqués, Qro.

Las vacas estaban produciendo leche bajo un sistema de ordeño robotizado DeLaval VMS™ (sistema de ordeño voluntario), que consiste en un módulo de ordeño que posee un brazo robótico, el cual coloca las pezoneras sin la necesidad de intervención humana. Estas salas son exclusivas para una vaca por ocasión.

Se ofrecieron dos dietas, con los mismos ingredientes, pero en diferentes proporciones, una dieta en periodo de transición y otra en periodo de PL, estas incluyen ensilaje de maíz, heno de avena, rastrojo de sorgo, maíz rolado, semilla de algodón, pasta de soya, harina de canola, melaza, vitaminas y minerales.

A través del sistema DeLaval VMS™ y la base de datos del rancho se obtuvo la información de la PL, FMd, FMx y CE total, por ordeño y por lactación.

Figura 1. Producción de leche de toda la lactación en las diferentes lactaciones analizadas.



Para estimar la heredabilidad se utilizó el algoritmo de máxima verosimilitud restringida para calcular los componentes de varianza genética aditiva, del medio ambiente permanente y la del residual, el estimador BLUE y el predictor BLUP, los cuales suelen ser empleados para la evaluación genética en el ganado, para cada una de las variables sujetas en la investigación, se eliminaron los datos atípicos.

Para la estimación de componentes de varianza y correlaciones genéticas, se planteó un modelo animal.

$$Y = \beta b + Zu + e$$

En donde  $Y$  es el vector de observaciones para un par de características a la vez,  $b$  es un vector de efectos fijos (día de prueba, días en leche y número de lactación),  $u$  es un vector de efectos aleatorios (animal y medio ambiente permanente),  $X$  y  $Z$  son matrices de incidencia para los vectores  $b$  y  $u$  respectivamente.

## Resultados

Se evaluaron los coeficientes de varianza fenotípica y residual bajo un modelo de regresión fija para el día de control que permite variaciones del ambiente a través de una lactación (Uribe, 2001). Con un total de 42,006 observaciones diarias para 174 lactaciones, los niveles promedio de PL para el día de control fueron de 38.55 +- .06 Kg., con una desviación estándar de 12.05 Kg.

En la Gráfica 2, se muestra el comportamiento productivo de las diferentes lactaciones medidas durante toda la lactación, y en la Gráfica 3, observamos el comportamiento productivo en los diferentes años de medición.

Para las características de PL, FMd, FMx y CE de leche se estimaron los componentes de varianza aditiva, ambiental permanente y del residual (Cuadro 1) para después estimar las heredabilidades, en donde se calcularon de 0.62, 0.44, 0.33 y 0.28, con repetibilidades de 0.70, 0.48, 0.84 y 0.77 respectivamente. En el Cuadro 2 se muestra la correlación genética estimada para las características de PL, FMd, FMx y CE.

Figura 2. Comportamiento de las lactaciones medidas durante todo el periodo de lactación.

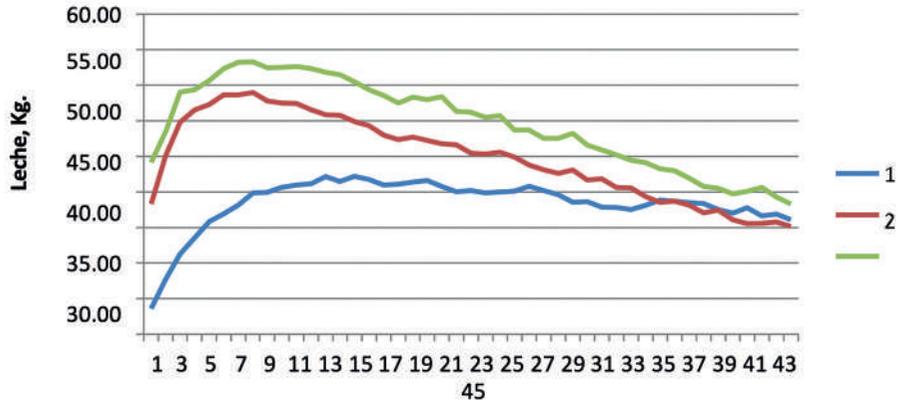
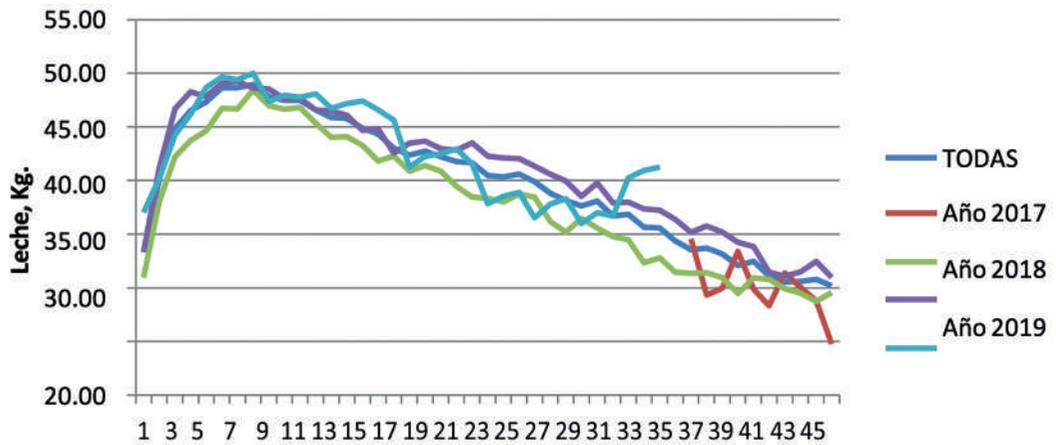


Figura 3. Comportamiento de la producción de leche en los años de medición.



**Cuadro 1. Componentes de varianza genética aditiva, ambiente permanente y varianza residual para producción de leche, conductividad eléctrica, flujo medio y flujo máximo de leche.**

	<i>Producción de leche</i>	<i>Conductividad Eléctrica</i>	<i>Flujo Medio</i>	<i>Flujo Máximo</i>
<i>Varianza Genética Aditiva</i>	183.60	0.11	0.05495	0.06502
<i>Varianza del Ambiente Permanentes</i>	23.74	0.09866	0.08282	0.1088
<i>Varianza Residual</i>	87.78	0.1292	0.02493	0.05189

**Cuadro 2. Correlaciones genéticas entre la producción de leche, la conductividad eléctrica, el flujo medio y el flujo máximo de la leche.**

	<i>Producción de leche</i>	<i>Conductividad Eléctrica</i>	<i>Flujo Medio</i>	<i>Flujo Máximo</i>
<i>Producción de leche</i>	1	-0.16690	-0.6117	-.7666
<i>Conductividad Eléctrica</i>	-0.16690	1	0.3546	0.5351
<i>Flujo Medio</i>	-0.6117	0.3546	1	0.7422
<i>Flujo Máximo</i>	-0.7666	0.5351	0.7422	1

## Discusión

Los índices de herencia fueron calculados por el modelo animal, se estimó la  $h^2$  y la  $r^2$  para la PL, FMd, FMx y CE de la leche. El rango de  $h^2$  estimados en ganado Holstein en México es de 0.13 a 0.57 (Valencia et al., 2008; Abubakar et al., 1987; Sosa, 1980; López et al., 2009), entretanto la  $h^2$  de PL observada en este trabajo fue de 0.62 con una  $r^2$  de 0.70. Markos y Touchberry (1970), estimaron una  $h^2$  de 0.165 a 0.37, valores similares encontrados por nosotros con una  $h^2$  de 0.33 y 0.28, y una  $r^2$  de 0.84 y 0.77 para el FMd y el FMx, respectivamente. Se han registrados valores moderados para la  $h^2$  de la CE, con rangos de 0.12 a 0.36 (Norberg, 2004), los cuales fueron inferiores a los estimados por nosotros, con una  $h^2$  de 0.44 y una  $r^2$  de 0.48.

La  $h^2$  para PL es un poco más elevada que las registradas anteriormente en México, se considera que uno de los aspectos que influyó en el valor obtenido de  $h^2$  en PL es debido a la variabilidad de cada día de observación. En general los valores estimados de  $h^2$  coinciden con rangos registrados por otros autores, con excepción de la PL, que tiene una  $h^2$  alta y no medio alta.

Samaraweera et al (2018), reportan correlaciones genéticas de CE y la PL positiva baja de 0.09, entretanto que nosotros estimamos una relación baja y negativa de -0.1669. Samaraweera et al (2018) también reportan correlaciones genéticas positivas y medias para el flujo de la leche con la CE y la PL, de 0.29 y 0.44 respectivamente. En el caso de flujo de leche y PL estimamos valores altos y negativos de -0.6117

y -0.7666, en tanto que, para la correlación genética de flujo de leche con CE, fue positiva y alta, de 0.5351.

## Conclusiones

El análisis de la producción de leche bajo un modelo animal mostró valores elevados de heredabilidad y repetibilidad, pero valores negativos altos de correlaciones genéticas asociadas a la producción de leche.

La conductividad eléctrica es un indicador adecuado para la mastitis. En el estudio calculamos una heredabilidad media alta, por lo que el rasgo puede ser adecuado para su uso en la selección genética, sobre todo una que incluya la selección contra mastitis, lo que también puede ser un reto.

A pesar de que los valores para heredabilidad para producción de leche y conductividad eléctrica son altos y medio altos para el flujo de la leche, es importante hacer un estudio con un número de registros mayor para mejorar la precisión de los resultados. Resulta de gran importancia un análisis con una mayor cantidad de observaciones, animales y lactaciones, lo que permitirá incrementar el nivel de certidumbre de los resultados arrojados en la investigación.

## Literatura citada

- Abubakar B., McDowell R. & Van Vleck, L. (1987) Interaction of genotype and environment for breeding efficiency and milk production of Holstein in México and Colombia. *Trop Agric.* 64, 17-22.
- Fernández, M., Alenda, R., Serrano, M. & Ugarte, E. (2000). Estudio del carácter velocidad de ordeño y recuento de células somáticas en primera lactación de la población vacuna frisona del país vasco. *ITEA.* 96A(3), 270- 276.
- Gianola, D. (2001). Los Métodos Estadísticos en el Mejoramiento Genético. Department of Animal Sciences, University of Wisconsin. EUA.
- Grindal, R. & Hillerton, J. (1991) Influence of milk flow rate on new intramammary infection in dairy cows. *J. Dairy Res.* 58:263-268.
- Goddard M. (2012). Uses of genomics in livestock agriculture. *Anim Prod Science*; 52, 73 – 77
- Lucy, M. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*, 84(6):1277-93.
- Magofke, J., García, X., González, U & Gargiullo, A. (2001). Parámetros genéticos en bovinos de leche. I. Antecedentes bibliográficos. *Avances en producción animal.* 26:31-48
- Markos, H. & Touchberry, R. (1970). Heritability of Rates of Milk flow and Time Required to Milk. *J Dairy Sci.* 53(2): 188-194.
- Samaraweera, A., Sandrucci, A., Tamburini, A., Bava, L. & Zucali, M. (2007). Factors Affecting Milk Flow Traits in Dairy Cows: Results of a Field Study. *J. Dairy. Sci.* 90: 1159-1167.
- S.A. (sf). *Incorporación de datos de flujo de ordeño en la valoración por ordeñabilidad.* *Rev Fris Esp.* 198, 34-35.
- Sosa, F. (1980) *Estimación de índice de herencia y constancia para producción de leche y tipo en un hato Holstein del noroeste de México (tesis de licenciatura) Universidad Nacional Autónoma de México.*
- Soto, V. (1982). *Control reproductivo en dos fincas del cantón de Coronado (tesis de pregrado).* Escuela de Zootecnia, facultad de agronomía. San José, Costa Rica.
- Uribe, H. (2001). *Modelando el día de control: nueva técnica estadística en evaluación genética de ganado bovino lechero.* ResearchGate. 61(4) 500-511.
- Utrera, A., Calderón, R., Rosete, J. & Lagunes, J. (2010). *Estimación de parámetros genéticos para características de fertilidad en ganado Suizo Pardo bajo condiciones subtropicales en México.* *Vet. Méx,* 41(2) 117-129.
- Valencia, P., Montaldo, V. & Ruiz, L. (2008) *Parámetros genéticos para características de conformación, habilidad de permanencia y producción de leche en ganado Holstein en México.* *Tec Pecu Méx* 46(3) 235-248.

# Asociación de marcadores endocrinos con la composición corporal en nadadores máster con entrenamiento sistemático

***Curriel-Cervantes, V.***

Programa Doctorado en Ciencias Biológicas.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

***Solís-Sainz, J.C.***

Departamento Ciencias Biomédicas.  
Facultad de Medicina, UAQ.

***Camacho-Barrón, M.***

Laboratorio Nutrición Humana. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

***Aguilar-Galarza, A.***

Programa Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

***Valencia-Juillerat, M.E.***

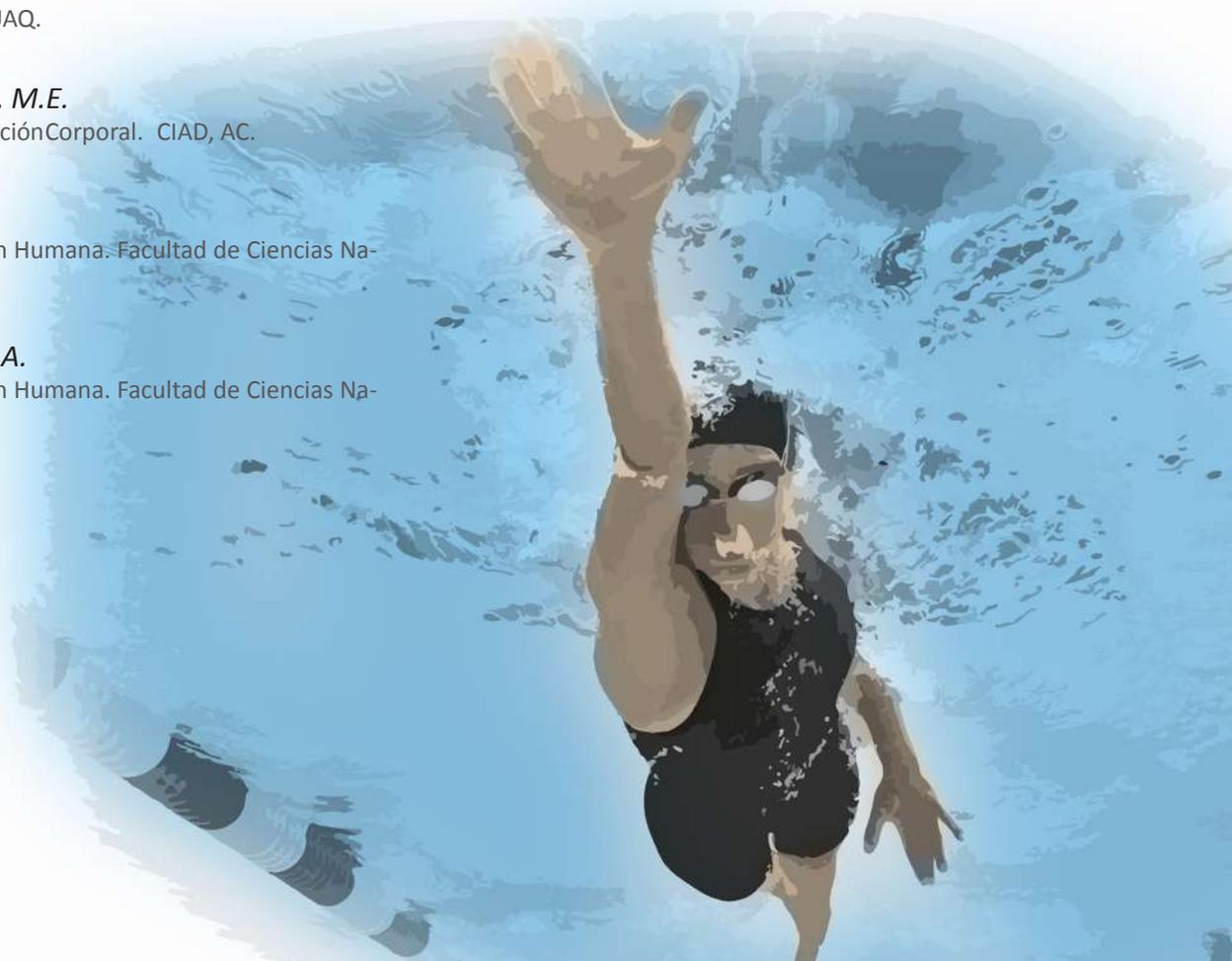
Laboratorio Composición Corporal. CIAD, AC.

***García-Gasca, T.***

Laboratorio Nutrición Humana. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

***Anaya-Loyola, M.A.***

Laboratorio Nutrición Humana. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

La composición corporal (CC) cambia al envejecer y está asociada a enfermedades. Varios indicadores endócrinos tienen un impacto regulador en la CC. La miostatina (MSTN) es una miocina que afecta la masa grasa y es un fuerte regulador negativo de la masa muscular (Schuelke *et al.*, 2004). MSTN elevada se ha relacionado con baja en masa muscular y sarcopenia, síndrome metabólico y mayor grasa corporal (Elkina *et al.*, 2011; Pinheiro *et al.*, 2017). La MSTN es regulada por la Folistatina (FST) con la consecuente inducción de mecanismos de síntesis de proteínas musculares y la neutralización de la MSTN (Lee *et al.*, 2010). Ambas proteínas cambian con la edad, y su liberación parece estar influenciada principalmente por el ejercicio (Ratkevicius *et al.*, 2011). La Irisina (IRI) actúa sobre la hipertrofia masa muscular (Reza *et al.*, 2017) por mecanismos sinérgicos al ejercicio (Śliwicka *et al.*, 2017). El IGF-1 regula la acción de la MSTN y tiene acción sinérgica con FST sobre la masa muscular. El IGF-1 tiene un rol principal en la reparación del tejido muscular inducido por entrenamiento intenso (Song *et al.*, 2013). La testosterona (TEST) impacta en la masa muscular y mayor cantidad de masa grasa; baja TEST se asocia con pérdida de fuerza en extremidades inferiores y mayor cantidad de grasa visceral (Roy *et al.*, 2002). MSTN, FST, IGF-1 y TEST coinciden en un solo mecanismo molecular para estimular la expresión de genes mediado por SMADs, mTOR, AKT y FOXO, que regulan la masa muscular esquelética y la composición corporal (White *et al.*, 2013; Chien *et al.*, 2013).

El tipo de ejercicio afecta los niveles de los marcadores endócrinos. El ejercicio aeróbico de ligera a moderada intensidad no tiene efecto sobre TEST y afecta negativamente IGF-1 y MSTN (Nishida *et al.*, 2010). En contraparte, el entrenamiento intenso mejora los niveles de TEST en mayores (Hayes *et al.*, 2017). El entrenamiento de fuerza es capaz de modular los niveles de IGF-1 y TEST, así como el catabolismo en obesos y saludables (Mangine *et al.*, 2015; Sheikholeslami- Vatani, 2017). Conocer el impacto del entrenamiento sistemático mixto sobre la CC permite contribuir al desarrollo de intervenciones en ejercicio, así como en el control biológico del entrenamiento en atletas máster. En este proyecto se analizó la asociación de estos marcadores con la CC (masa grasa vs masa magra) en atletas máster con entrenamiento mixto (aeróbico-anaeróbico) con fines competitivos.

## Métodos

Estudio transversal descriptivo y de asociaciones se realizó en 62 adultos de entre 30 y 70 años ( $27 \pm 2.8$  años) divididos en dos grupos: el grupo con entrenamiento sistemático (ES) y el grupo sin entrenamiento sistemático (ENS). Los criterios de selección se muestran en la **Cuadro 1**. El grupo de ES tenía un nivel de actividad física (NAF)  $\geq 1.6$ , de  $\geq 450$  min/semana de ejercicio, eran nadadores máster que se entrenaban bajo un sistema de tolerancia láctica dos veces por semana y practicando esta actividad al menos durante 5 años previos. El grupo de Entrenamiento No Sistemático (ENS) tenía un

NAF $\leq$ 1.5 y realiza  $\leq$ 180min/semana. Este estudio fue aprobado por el comité de ética Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ. Los participantes proporcionaron su consentimiento informado.

## Parámetros evaluados

### a. Análisis de antropometría y composición corporal.

Se determinaron estatura, peso, cintura, masa grasa (MG) índice de masa grasa (IMG), índice de masa libre de grasa (IMLG), índice de masa muscular esquelética (IMME) por Bioimpedancia Eléctrica compartimental (mBCA 525).

### b. Parámetros bioquímicos: biometría hemática y química sanguínea.

### c. Determinación del nivel de actividad física y entrenamiento.

Para determinar la condición física en nadadores, se determinaron los tiempos en estilo libre realizados en 50 y 400m., así mismo se determinó el nivel de actividad física y la asistencia a entrenamiento.

### d. Miostatina y marcadores endócrinos de actividad muscular. Niveles séricos de parámetros endócrinos como miostatina (MSTN), cortisol (COR), así como anabólicos tales como folistatina (FST), IGF-1, irisina (IRI), testosterona (TEST) e insulina (INS) que se determinaron por ELISA.

## Análisis estadístico

Se muestran como las medias  $\pm$  error estándar (SE). Se determinó la normalidad de los datos y pruebas de homocedasticidad. Modelo lineal general Univariado y Multivariado se realizaron para analizar las diferencias en la composición corporal, parámetros bioquímicos y endocrinos ajustados por covariables. Para el análisis entre la composición corporal y los marcadores endocrinos se usaron correlaciones parciales ajustados por sexo y edad. El poder estadístico fue

$>80\%$ .  $p < 0.05$  fue considerado como significativo. Análisis fueron con el programa SPSS versión 23.0.

## Resultados

Características de los participantes

El grupo ES tuvo niveles más bajos de indicadores de grasa como ICE, MG% e IMG, así como glucosa, HOMA-IR y TG, pero mayores niveles de HOMA-S y parámetros de magreza como MLG%, FFMI, MME e IMME en comparación con el grupo ENS (**Cuadro 1**).

## Marcadores endócrinos por grupo

Marcadores anabólicos como TEST e IGF-1 fueron más altos en el grupo ES, mientras que los parámetros catabólicos como MSTN y COR fue-

ron más bajos en el grupo ES ( $p < 0.001$ ) (**Cuadro 2**). Ambos niveles de TEST y COR fueron más altos en el grupo ES. FST e IGF-1, dos activadores fisiológicos fuertes de masa muscular, tenían una asociación negativa en ambos grupos. En particular, IMLG e IMME se asociaron positivamente con MSTN en el grupo ENS, mientras que MSTN e IGF-1 se asociaron positivamente con IGF-1 e IRI negativamente en el ES (**Cuadro 3**). Esto es coincidente con el análisis de regresión lineal (datos no mostrados).

## Discusión

En este estudio, los niveles séricos de marcadores endocrinos involucrados en la CC fueron diferentes entre los grupos ES y ENS. Los niveles de MSTN tienden a ser más altos en individuos con obesidad (Zhu *et al.*, 2014). No se encontraron diferencias en los niveles de MSTN entre los jóvenes sanos y los jugadores universitarios de baloncesto y levantadores de pesas (Han *et al.*, 2017). Después de un programa de ejercicios, los niveles de MSTN se asociaron con la aptitud física y el menor riesgo de fragilidad en hombres mayores (Arrieta *et al.*, 2019). En nuestro estudio los niveles de MSTN fueron más bajos en el grupo ES, que podría ser reflejo del tipo de entrenamiento durante el envejecimiento.

IGF-1 activa las vías de señalización del control de masa muscular y se conoce como un mediador de acciones anabólicas de la hormona de crecimiento (Velloso, 2008). Los niveles de IGF-1 han mostrado ser más altos en atletas

jóvenes de élite y no élite que en sujetos sanos (Sartorio *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2017), así como en atletas máster que sus contrapartes sedentarias (Herbert *et al.*, 2016). Se ha demostrado que una resistencia mixta y un programa de alta intensidad aumentó la actividad del eje GH/IGF-1 en sujetos entrenados (Williams *et al.*, 2011). Los sujetos en el grupo ES de este estudio mostraron niveles más altos de IGF-1 que los sujetos ENS, probablemente inducidos por los estímulos anabólicos crónicos del entrenamiento de ejercicio de tolerancia al ácido láctico.

Los niveles de COR fueron más altos en el grupo ES. Se sabe que el ejercicio de entrenamiento de intensidad moderada a alta provocará un aumento significativo en los niveles séricos de COR (Hills, 2008). El COR puede aumentar la degradación de las proteínas después del ejercicio. Este proceso es crucial para el proceso de remodelación de MME inducido por el ejercicio (Hckney & Walz 2013; Morgan *et al.*, 2016). Aunque el COR induce efectos catabólicos sobre el músculo esquelético e induce uso de aminoácidos como combustible en ejercicio (Sharo *et al.*, 2010), esas acciones parecen ser beneficiosas para el proceso de recuperación del ejercicio. Aunque la INS puede favorecer el incremento de la masa grasa, como en nuestro estudio, no se encontró dicha asociación, probablemente porque se trata de sujetos sin obesidad y físicamente activos.

El ejercicio ejerce un papel importante en el mantenimiento de la masa magra. IGF-1 e IRI parecen desempeñar un papel importante en la promoción de factores miogénicos al envejecer (Lee *et al.*, 2017). En este estudio existieron

dos hallazgos relevantes. Los niveles más bajos de IRI se encontraron en el ES en comparación con el grupo ENS, consistente con otros estudios (Huh *et al.*,2014). Se ha demostrado que el ejercicio puede afectar tanto a los niveles de MSTN como a IRI, tanto en atletas de élite expuestos a hipoxia a gran altitud como en ancianos después de un programa de ejercicios individualizado por resistencia. Curiosamente, en atletas entrenados los niveles de IRI disminuyen y el MSTN aumenta después de sólo 2 semanas de ejercicio extenuante en altitud, pero con una pérdida significativa de MLG y peso total. Por el contrario, después de un programa de entrenamiento, los niveles de IRI aumentaron mientras que MSTN y MLG se mantuvieron sin cambios. Correlaciones negativas entre IRI y MSTN apoyan el rol supresor de IRI sobre MSTN inducido por el ejercicio.

## Conclusiones

En conclusión, al parecer los marcadores estudiados no tienen una asociación con indicadores de masa grasa en personas sin obesidad. Indicadores de la CC como el IMLG e IMME parecen estar influenciados de forma distinta según el grupo. MSTN es un marcador regulador común independientemente del entrenamiento mientras que IRI e IGF-1 parecen influir más en sujetos entrenados. Estos hallazgos subrayan el papel de los programas de ejercicio en el mantenimiento de la masa magra al envejecer. Se requiere más investigación para identificar cómo estos marcadores afectan la salud y el rendimiento de la mediana edad altamente activa, adultos mayores y personas sedentarias.

## Literatura citada

1. Allen DL, Hittel DS, McPherron A. Expression and Function of Myostatin in Obesity, Diabetes, and Exercise Adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 October ; 43(10): 1828–1835. doi:10.1249/MSS.0b013e-3182178bb4.
2. Andonian BJ, Bartlett DB, Huebner JL, Willis L, Hoselton A, Kraus V, Kraus WE, Huffman KM. Effect of high-intensity interval training on muscle remodeling in rheumatoid arthritis compared to prediabetes. *Arthritis Research & Therapy* (2018) 20:283. DOI:10.1186/s13075-018-1786-6.
3. Arrieta H, Hervás G, Rezola-Pardo C, Ruiz-Litago F, Iturburu M, Yanguas JJ, Gil SM, Rodríguez-Larrad, A, Irazusta J. Serum Myostatin Levels Are Higher in Fitter, differ between sports? *Clinical Diabetes and Endocrinology* (2018) 4:3. DOI 10.1186/s40842-017-0050-3.
4. Arrieta H, Hervás G, Rezola-Pardo C, Ruiz-Litago F, Iturburu M, Yanguas JJ, Gil SM, Rodríguez-Larrad, A, Irazusta J. Serum Myostatin Levels Are Higher in Fitter, differ between sports? *Clinical Diabetes and Endocrinology* (2018) 4:3. DOI 10.1186/s40842-017-0050-3.
5. Barbalho, S.M., Prync, U.A., Tofano, R.J., Alvares, R., Landgraf, E., Rucco., Vieira, D., Cressoni, A., Leone., Rodrigues, F., Biteli, P., Rodrigues, D., Dib, M. Physical exercise and myokines: relationships with sarcopenia and cardiovascular complications. (2020). *Int.J. Mol. Sci.*, 21, 3607. DOI:10.3390/ijms21103607.
6. Barbé C, Kalista S, Thissen JP. Role of IGF-1 in follistatin-induced skeletal muscle hypertrophy. 2015. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 15; 3009(6): E557-E567. DOI: 10.1152/ajpendo.00098.2015.
7. Han D-S, Chu-Su Y, Chiang C-K, Tseng F-Y, Tseng P-H, Chen Ch-L, Wu K-D, Wang W-Sh.

- (2014) Serum Myostatin Is Reduced in Individuals with Metabolic Syndrome. PLoS ONE 9(9): e108230. doi:10.1371/journal.pone.0108230.
8. Hayes LD, Herbert P, Schulthorpe NF, Grace FM. Exercise training improves free testosterone in lifelong sedentary aging men. *Endocrine Connections* (2017) 6, 306–310. DOI: 10.1530/EC-17-0082.
  9. Hills EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Hackney AC. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *J Endocrinol Invest*. 2008. 31:587-591. DOI:10.1007/bf03345606.
  10. Hittel, D; Axelson, M; Sarna, N; Shearer, J; Huffman, K; Kraus, W (2010). Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Med. and Science in Sports and Exercise*. 42, 9. DOI: 10.1249/MMS.0b013e3181e0b9a8.
  11. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, *et al*. Exercise-induced irisin secretion is independent of age of fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99(11):E2154-61. DOI: 10.1210/jc.2014-1437.
  12. Lee EC, Fragala MS, Kavouras, SA, Queen RM, Tryor JL, Casa DJ. Biomarkers in sports and exercise: tracking health, performance, and recovery in athletes. *J Strength Cond Res*. 2017. 31(10): 2920-2937. DOI:10-1519/JSC.0000000000002122.
  13. Mangine GT, Hoffman JR, Gonzalez AM, Townsend JR, Wells AJ, Jajtner AR, Beyer KS, Boone CH, Miramanti AA, Wang R, LaMonica MB, Fukuda DH, Ratamess NA, Stout JR. The effect of training volume and intensity on improvements in muscular strength and size in resistance-trained men. *Physiol Rep*, 3 (8), 2015, e12472, doi:10.14814/phy2.12472.
  14. Nishida Y, Matsubara T, Tobira T, Shindo M, Unehiro, Tokuyama K, Tanaka K, Tanaka H. Effect of Low-Intensity Aerobic Exercise on Insulin-Like phenotype in muscle function and aerobic capacity in young adults. *Cytokine* 107 (2018) 118–124. DOI: 10.1016/j.cyt.2017.12.008.
  15. Pinheiro L, Pedrolongo R, Thomazzo-Luprini LD, Gonçalves R, Carneiro M, Paula R, Bonjorno-Junior JC, Oliveira CR, Luporini R, Borghi-Silva A. Myostatin and adipokines: The role of the metabolically unhealthy obese. *Int J of End*. 2010; 45:2820.
  16. Sheikholeslami-Vatani D, Ahmadi S, Salavati R. Comparison of the Effects of Resistance Exercise Orders on Number of Repetitions, Serum IGF-1, Testosterone and Cortisol Levels in Normal-Weight and Obese Men. *Asian J Sports Med*. 2016 March; 7(1): e3050
  17. Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hubner C, Riebel T, Komen W, Braun T, Tobin JF, Lee SJ. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med* 350;26, 2004.
  18. Śliwicka E, Cisoń T, Kasprzak Z, Nowak A, Pilaczyńska-Szcześniak E (2017) Serum irisin and myostatin levels after 2 weeks of high-altitude climbing. PLoS ONE 12(7): e0181259. DOI: 10.1371/journal.pone.0181259.
  19. Song YH, Song JL, Delafontaine P, Godard MP. The therapeutic potential of IGF-I in skeletal muscle repair. *Trends Endocrinol Metab*. 2013; 24(6): 310–319. DOI:10.1016/j.tem.2013.03.004.
  20. Uchida MC., Pereira RF., Navarro F., Pontes FL., Tessuti VD., Moreau RL., Pereira LF., Saldanha M. Alteration of testosterone:cortisol ratio induced by resistance training in women. (2004). *Rev Bras Med Esporte*. 10(3):1-4.

# Expresión heteróloga del sistema Killer de *Saccharomyces cerevisiae* en líneas células de mamífero.

***De la Cruz Sariñana, L. A.***

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana, FCN, UAQ.  
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***Vázquez Mendieta, J. A.***

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana, FCN, UAQ.  
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***Molina Vera, C. A.***

Maestría en Ciencias Biológicas, FCN, UAQ.  
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***Villarreal Ramírez, J.***

Maestría en Ciencias Biológicas, FCN, UAQ.  
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***Barrientos Trujillo, J. G.***

Licenciatura de Biología, FCN, UAQ.  
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***Morales Tlalpan V.***

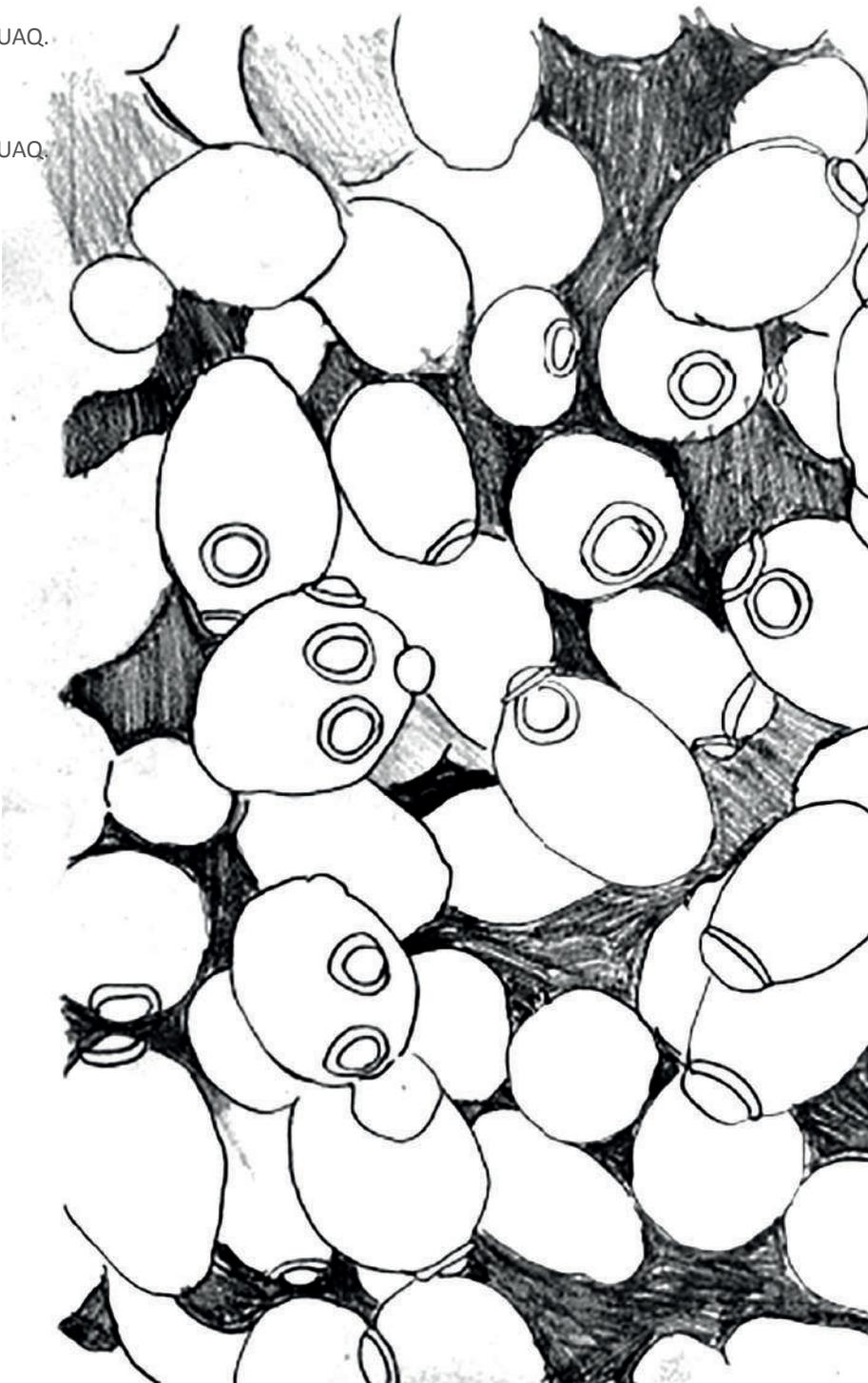
Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.

***González Gallardo, A.***

Unidad de Proteogenómica, INB-UNAM.

***Saldaña, C.***

Laboratorio de Biofísica de Membranas, FCN, UAQ.



# Introducción

La levadura, microorganismo unicelular eucariote perteneciente al reino fungí, presenta capacidades de competencia altamente específicas que le otorgan su característica ubicuidad (Muccilli & Restuccia, 2015). La producción y secreciones de toxinas de origen proteico o glucoproteico con efecto letal para cepas sensibles de la misma especie o relacionadas, es una de las capacidades competentes que ciertas poblaciones de levadura presenta (Woods & Bevan, 1968).

El fenómeno es denominado “levaduras asesinas” (*Killer yeast*) y tiene su precedente en 1963, en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Makower & Bevan, 1963). En ambiente silvestre, el sistema *Killer* ofrece a cepas que lo expresan, la ventaja de generar una defensa antimicrobiana y una condición competente, al permitir la obtención de nutrientes para el crecimiento, la adaptación y supervivencia al medio y condiciones estresantes (Pieczynska *et al.*, 2017).

Actualmente, el sistema *Killer* está presente en diversos géneros de hongos y levaduras: *Williopsis*, *Pichia*, *Ustilago maydis*, *Kluyveromyces*, *Candida* entre otros. Cada género secreta un tipo de toxina diferente y su genoma es asociado a:

... cromosómicos, DNA lineal, RNA segmentados y (Magliani *et al.* virus conformados por RNA bicatenario (dsRNA), genes 1997. En *S.cerevisiae*, el fenotipo *Killer* es originado por la presencia de dos virus dsRNA (doblé-Strand-

ed RNA) citoplasmáticos extracromosómicos, pertenecientes de la familia *Totiviridae*, de la clase *Micovirus* (Buck, 1991).

El virus auxiliar L-A (4.6 Kb), por medio de sus dos marcos de lectura (5'ORF; 3' ORF), proporciona cápsides de partículas similares a virus (*Virus Like Particles, VLPs*) las cuales otorgan estabilidad viral en el citoplasma de la cepa infectada e intervienen en la replicación de ambos virus. Los satelital M, a través de su marco de lectura abierto (5'ORF) confiere la síntesis y producción de las toxinas (Magliani *et al.*, 1997; Schmitt, 2002). Se han identificado cuatro tipos de virus M en *S.cerevisiae* ScV-M1 (1.8 Kb), ScV-M2 (1.5 Kb), ScV-M28 (1.9 Kb), ScV-MKlus (2.0-2.1 Kb), los cuales permiten la síntesis de las toxinas *K1*, *K2*, *K28* Y *Klus* respectivamente, además de componentes de auto-protección hacia la propia toxina secretada (Magliani *et al.*, 1997; Rodríguez-Cousiño *et al.*, 2011). La toxina *Killer 1 (K1)*, es la exotoxina más estudiada hasta el momento. Dentro de la cepa de levadura es encontrada como una preprotoxina (pptox), compuesta por cuatro dominios:  $\delta$ , dominio líder encargado del plegamiento y secreción de la toxina;  $\alpha$ , dominio que posee dos regiones hidrofóbicas que facilitan la inserción de la toxina madura a la membrana plasmática de la cepa sensible;  $\beta$ , péptido central que contiene tres sitios de N-glicosilación necesarios para la maduración de la toxina;  $\beta$ , dominio requerido para establecer unión en la pared celular de la cepa sensible. La toxina madura es conformado y secretada por los dominios  $\alpha$ - $\beta$  unidos mediante puentes disulfuro (Magliani *et al.*, 1997). A pesar del descubrimiento en los años 60's del



efecto *Killer* en levaduras sensibles, el blanco molecular de la toxina *K1* no fue determinado hasta el año 1999. A partir de la secuenciación del genoma de *S.cerevisiae*, se encontró a través de uno de sus múltiples marcos de lectura, un canal de potasio con dos dominios de poro en tándem, denominado TOK1 (*Two domains Outwardly Potassium K<sup>+</sup> Channel*), con la función de rectificador saliente de potasio y el cual, al sufrir delección del mismo no presentaba tener un fenotipo de importancia ya que, la levadura podía sobrevivir sin su presencia (Ketchum, 1995). Consecuentemente, en 1999 se precisó que el canal TOK1 era el potencial blanco molecular de la toxina *K1*. El efecto *Killer* observado es vinculado hasta el momento con un aumento en la probabilidad del estado abierto del canal, lo cual desencadena un flujo descontrolado de potasio hacia el espacio extracelular, evento el cual culmina con la muerte celular. (Ahmed *et al.*, 1999). Asimismo se ha sugerido que las cepas *Killer* (productoras y secretoras de toxina) exhiben una inmunidad a su propia toxina, esto a causa de emplear la preprotoxina (pptox) como medida de autoinmunidad desde el espacio intracelular (Sesti *et al.*, 2001). El empleo de sistemas de expresión heteróloga, técnica de biología molecular, representa una oportunidad para la caracterización del mecanismo *Killer*, eliminando los factores intrínsecos propios de la levadura que no han permitido hasta el momento una descripción concreta del sistema, así como el estudio de la expresión genética en un marco más amplio.

Actualmente se tiene precedente de la expresión de manera transitoria del canal TOK1

en células de riñón embrionario (HEK-293) (Saldaña, C., 2002)

## Métodos

### Cultivo celular

Se emplearon las líneas celulares MCF-7 y MCF-12F (Michigan Cancer Foundation clona 7 y 12F). Las líneas celulares son células ductales de tejido mamario. La línea celular MCF-7 procede de una mujer caucásica de 69 años de edad mediante una biopsia de un adenocarcinoma metastásico. La línea celular MCF-12F tiene origen de una mujer caucásica sana a través de una cirugía de rutina (ATCC 2019b, 2019a).

El mantenimiento del cultivo celular se realizó en cajas de 60 mm, mediante el empleo del medio DMEM (Medio de Eagle Modificado por Dulbecco) como medio de cultivo, suplementado a su vez con SBF (Suero Fetal Bovino) al 10%, penicilina y estreptomina.

El cultivo celular se llevó a cabo retirando y desechando el medio base de la caja de cultivo mediante aspiración para la adición consecuente de un 1 mL de solución de Verseno para una incubación de 1 minuto a 37 °C, esto con la finalidad de propiciar la eliminación de desechos celulares. Seguido del tiempo determinado, se prosiguió a ser aspirada la solución. Posterior a este paso, se añadió 200 µL de tripsina para la disgregación de uniones celulares, apoyado con una disgregación mecánica y lavado de la base de la caja de cultivo, por medio de un piteteo constante en toda el área de cultivo evitando la formación de burbujas. El tiempo

de disgregación estuvo delimitado hasta lograr una dispersión homogénea de una mono capa de células en toda la caja de cultivo observada, empleando un microscopio invertido para su visualización. Una vez obtenida una adecuada dispersión, se procedió la adición de mililitros restantes de medio DMEM suplementado para la desactivación de digestión enzimática y el alcanzar un volumen total de 3mL. Los parámetros de cultivo estándar fueron incubación a 37°C a una concentración de CO<sub>2</sub> AL 5 % para ambas líneas.

### *Insertos, secuencia de interés.*

La secuencia TOK1, blanco molecular de sistema *Killer*, fue el inserto de interés a expresar en las líneas celulares MCF-7 y MCF-12F. Este se encontraba contenido en el plásmido pGEMA, vector de clonación con alta eficacia que contiene sitios de clonación y viable para el uso en la transformación bacteriana. Su obtención fue mediante el corte enzimático de BamHI y NotI en los extremos 5' y 3'.

Para la expresión en células de mamífero, se empleó el vector pcDNA 3-EGFP en el cual se realizó la construcción molecular con las enzimas BamHI y NotI para la inserción del canal TOK1. El vector contiene un promotor citomegalovirus (CMV) el cual permite una expresión de alto nivel y estabilidad de expresión genética (Elegheert *et al.*, 2018).

Ambos plásmidos se encontraban contenidos en la clona DH5-ALPHA, clona bacteriana transformada mediante el uso de la técnica de choque térmico.

### *Extracción de material genético de interés.*

Para la obtención de ambos plásmidos se empleó la técnica de Midiprep, la cual tiene el fundamento de purificar plásmidos de la bacteria transformada, eliminando material bacteriano (genoma, orgánulos, membranas celulares y pared celular).

Se partió de un inoculado de 250 mL de cultivo bacteriano de la cepa transformada con pGEMA-TOK1, pcDNA 3-EGFP y se realizó un cultivo de 24 horas en agitación a 28 °C, 120 rpm en medio LB+AMP.

### *Restricción enzimática.*

Para la liberación del inserto de interés TOK1 del plásmido pGEMA y la apertura del plásmido pcDNA 3-EGFP y realizar la construcción molecular pcDNA 3-EGFP-TOK1 se empleó las enzimas de restricción BamHI y NotI en el sentido del corte 5'-3' en una incubación de corte de 24 horas a 37 °C.

### *Extracción de material genético a partir de gel de agarosa.*

Para la extracción de material genético procesado con el corte enzimático BamHI-NotI, se empleó el kit de Wizard® SV Gel and PCR clean-up System Technical.

# Resultados y discusión

El material genético obtenido de la lisis alcalina bacteriana fue sometido a cuantificación por medio del uso de nanodrop, mediante el uso de 1µL de cada muestra. El material plásmido pcDNA 3-EGFP tiene índice de pureza aceptable en la relación 260 nm/280 nm, indicando que se encuentra libre de contaminantes como como proteínas. No obstante, las muestras del material pGEMA-TOK1 no exhiben dicha pureza, puesto que la relación es menor al rango “puro” aceptable 1.8-2.0.

En cuanto a la relación 260 nm /230 nm, de igual forma muestras de pcDNA3-EGFP muestran mejor pureza en cuanto a las muestras pGEMA-TOK1, indicando que estas últimas pueden tener contaminantes de fenoles. La falta de pureza puede ser debido a la contaminación de EDTA al momento de realizar la lisis bacteriana procedente de la Midiprep, los cuales infravaloran la muestra en 0.2~0.3.

Como resultado del corte enzimático BamHI-NotI para ambos plásmidos, apertura de pcDNA 3-EGFP, pGEMA-TOK1, la obtención de banda fue mayor en pcDNA 3-EGFP *versus* pGEMA-TOK1, esto posiblemente debido al poco material genético cuantificado por el nanodrop. Un posible factor interferente en la obtención de una cantidad significativa de material genético es a que el plásmido pGEMA con el inserto TOK1 resulte tóxico para la bacteria transformante y esto limite la duplicación de la misma, afectando directamente a clonación del plásmido. Con ende a lo

anterior, la recuperación de la banda de gel de agarosa solo se aplicó al pcDNA 3-EGFP, la cual exhibe en visualización ultravioleta (UV) una banda grande y bien delimitada. Ahora bien, en el laboratorio de investigación se ha logrado realizar transfecciones exitosas con vectores que permiten visualizar la expresión del reportero GFP.

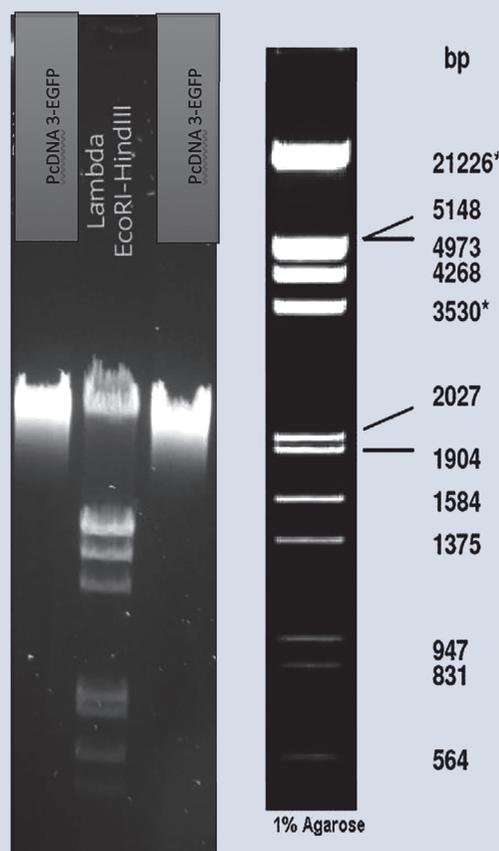


Figura 1. Visualización pcDNA 3-EGFP digerido con BamHI-NotI y extraído de gel de agarosa al 1%. La obtención por el empleo del kit de Wizard® SV Gel and PCR clean-up System Technical, permitió la recuperación eficiente de la banda correspondiente al pcDNA 3-EGFP con un grado de pureza alto

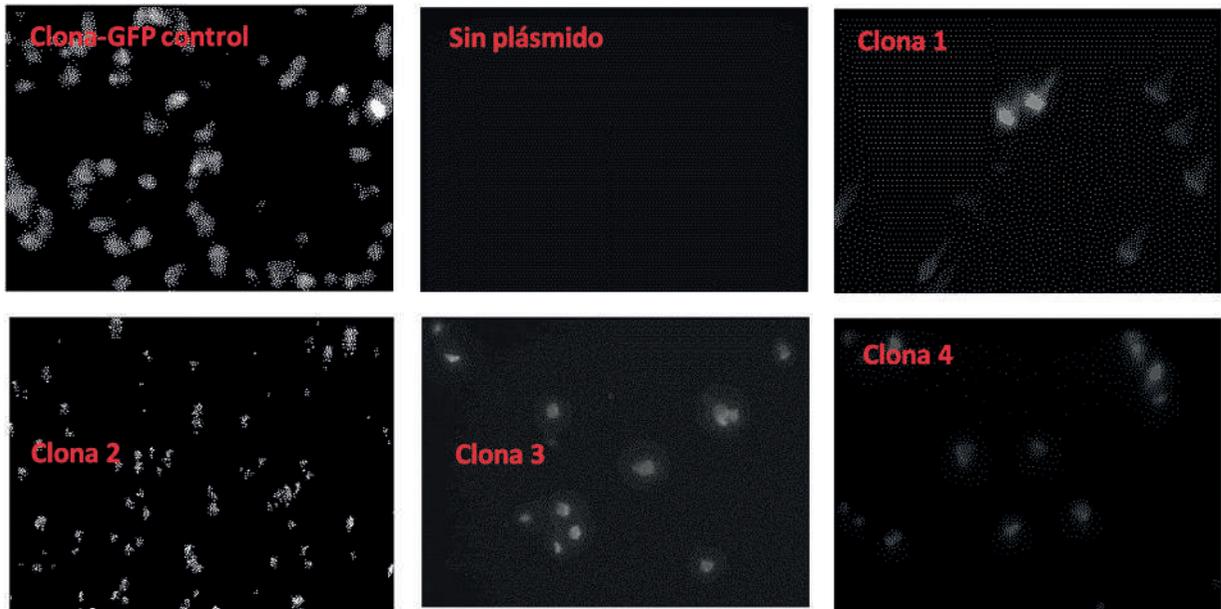


Figura 2. Clonas de líneas celulares MCF-7 transfectadas empleando el plásmido pSEW -GFP (conmutaciones al azar por radiación Ultra Violeta-UV), mediante el método de  $\text{CaCl}_2$ ; visualización a escala de grises.

Como se observa en la figura 2, se ha obtenido una transfección transitoria exitosa en las 4 clonas utilizadas de la línea celular MCF-7. Sin embargo, el reportero GFP se exhibe en mayor o menor grado en cantidad e intensidad comparado con la clona GFP-control (sin mutaciones). La diferencia en estos parámetros puede ser debido a las mutaciones producidas al azar mediante radiación UV las cuales ocasionan daño en el DNA y RNA produciendo formación de dímeros de pirimidina y otros dímeros de menor estabilidad que afectan la estructura del DNA e interfieren en la replicación y transcripción del mismo (Ghodke *et al.*, 2014). En el caso del plásmido, se puede relacionar la mutación en la estructura del barril de la proteína GFP la cual rodea el cromóforo para garantizar su función (Stepanenko *et al.*, 2011).

## Conclusiones

Se ha logrado el corte enzimático de pcDNA 3-EGFP y el inserto de TOK1 contenido en el plásmido pGEMTA con las enzimas BamH1-Not1, las cuales ofrecen el generar extremos complementarios para realizar la construcción molecular pcDNA 3-EGFP-TOK1. La construcción molecular tiene la finalidad de ser empleada para la transfección y expresión heteróloga en líneas celulares de mama y con ello se realice el estudio de los elementos mínimos del sistema *Killer*, presente en *S. cerevisiae*, para el presente proyecto del canal TOK1, blanco molecular de la toxina. La expresión heteróloga del sistema permite expandir horizontes con posibles aplicaciones biotecnológicas como, el control de proliferación celular mediante un blanco molecular dirigido.

## Financiamiento y Agradecimientos.

DSLA y VMJA son becarias del CONACyT números: 679872 y 992582. Este proyecto cuenta con financiamiento de: 1) SEP-CONACyT Ciencia Básica A1-S-26966. 2) CONACyT Laboratorios Nacionales: LAVIS-UAQ. 3) FONDEC 2019. Agradecemos a la Unidad de Proteogenómica del INB-UNAM, por el apoyo logístico.

## Literatura citada

- Ahmed, A., Sesti, F., Ilan, N., Shih, T. M., Sturley, S. L., & Goldstein, S. A. N. (1999). *Cell*, 99(3), 283–291. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81659-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81659-1)
- Buck, K. W., and S. A. G. (1991). <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9163-7>
- Elegheert, J., Behiels, E., Bishop, B., Scott, S., Woolley, R. E., Griffiths, S. C., (2018).. *Nature Protocols*, 13(12), 2991–3017. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0075-9>
- Ghodke, H., Wang, H., Hsieh, C. L., Woldemeskel, S., Watkins, S. C., Rapić-Otrin, V., & Van Houten, B. (2014).. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(18), E1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.1323856111>
- K A Ketchum, (1995). *NATURE*. 376(6542), 690–695. <https://doi.org/10.1038/376690a0>
- Magliani, W., Conti, S., Gerloni, M., Bertolotti, D., & Polonelli, L. (1997). *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 10, pp. 369–400. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.3.369>
- Makower, M., & Bevan, E. A. (1963). *Proceedings of the XI International Congress of Genetics*, 1, 202.
- Muccilli, S., & Restuccia, C. (2015). *Microorganisms*, 3(4), 588–611. <https://doi.org/10.3390/microorganisms3040588>
- Pieczynska, M. D., Korona, R., & De Visser, J. A. G. M. (2017). *Journal of Evolutionary Biology*, 30(4), 773–781. <https://doi.org/10.1111/jeb.13044>
- Rodríguez-Cousiño, N. (2011). *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1822–1832. <https://doi.org/10.1128/AEM.02501-10>
- Saldaña, C. (2002).. *Journal of Biological Chemistry*, 277(7), 4797–4805. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107957200>
- Schmitt, M. J., & Breinig, F. (2002). *FEMS Microbiology Reviews*, 26(3), 257–276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00614.x>
- Sesti, F., Shih, T. M., Nikolaeva, N., & Goldstein, S. A. N. (2001). *Cell* (Vol. 105).
- Stepanenko, O. V., Stepanenko, O. V., Shcherbakova, D. M., Kuznetsova, I. M., Turoverov, K. K., & Verkhusha, V. V. (2011, November).. *BioTechniques*, Vol. 51, pp. 313–327. <https://doi.org/10.2144/000113765>
- Woods, D. R. (1968). *Journal of General Microbiology*, 51(1), 115–126.

# Evaluación de la eficacia de un extracto de sustancias húmicas como promotor de crecimiento no antibiótico y su efecto antioxidante para incrementar la producción de carne de pollo

*Domínguez Negrete, LA.*

Universidad Autónoma de Querétaro FCN

*Gómez Rosales, S.*

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias INIFAPAjuchitlán, Qro.

Universidad Autónoma de Querétaro FCN

*Angeles, ML.*

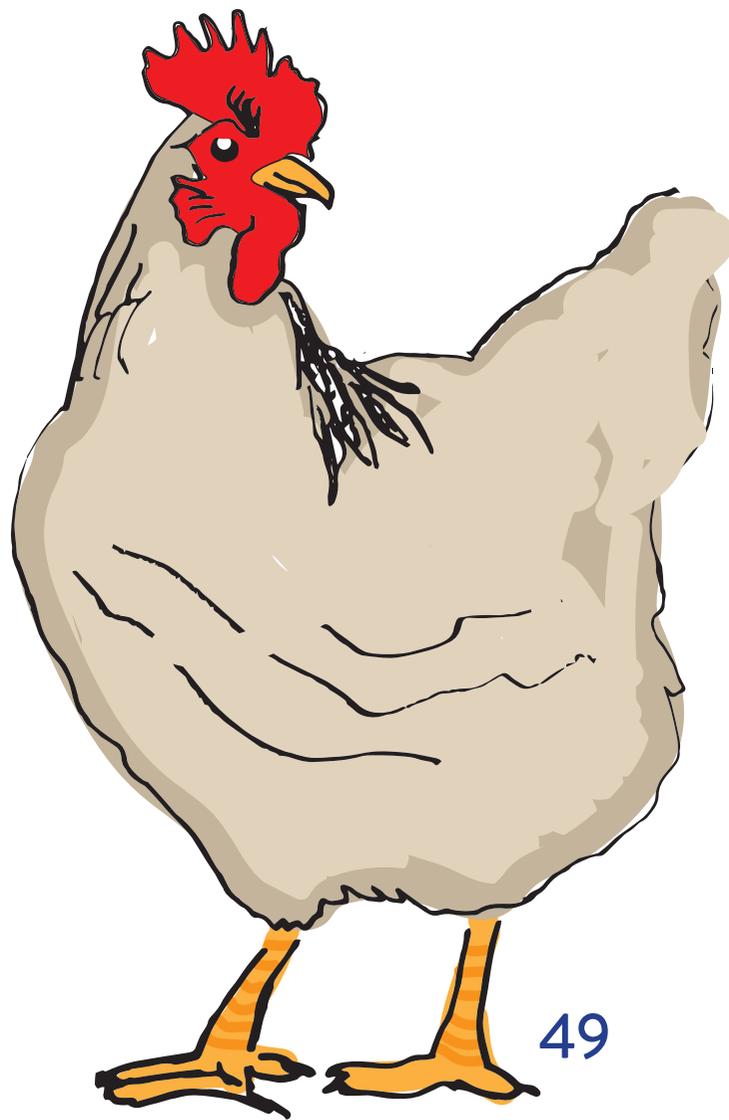
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias INIFAP Ajuchitlán, Qro.

*Reis de Souza, TC.*

Universidad Autónoma de Querétaro FCN

*López García, YR.*

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias INIFAPAjuchitlán, Qro.



# Introducción

El uso constante de antibióticos promotores de crecimiento en la nutrición animal, ha dado pie al desarrollo de resistencia bacteriana (Smith, 1999; Gorback, 2001; FAO, 2013), lo cual puede ser perjudicial tanto para los animales como para los consumidores, en la búsqueda de compuestos para sustituirlos de las dietas se han evaluado diversos productos, como es el caso de las sustancias húmicas (SH).

Las SH se originan de la descomposición de la materia orgánica y se encuentran de manera natural en el agua de bebida, el suelo y lignito. Los componentes de las SH son el ácido húmico, ácido fúlvico y huminas; estas moléculas contienen en las cadenas laterales grupos funcionales que les confieren diferentes cualidades (coloidales, espectrales, electroquímicas y de intercambio de iones) (Islam et al., 2005). Con SH extraídas de minas de leonardita, y SH purificadas, se han demostrado beneficios en la productividad, integridad intestinal, respuesta inmune, protección antioxidante y condiciones de estrés en pollos de engorda, gallinas de postura y cerdos (Ozturk et al., 2010; Písakíková et al., 2010;

Taklimi et al., 2012). Dado que, las SH también se encuentran en altas concentraciones en las lombricompostas preparadas con estiércol de animales domésticos, debido al proceso de humificación (Gómez et al., 2013), con el uso de lixiviado de humus de lombriz se observó mayor productividad, digestibilidad y retención de energía, nitrógeno y cenizas en pollos (Gómez y Ángeles, 2015). También, con

un extracto de SH (ESH) provenientes de lombricomposta, se encontraron mejoras en la permeabilidad intestinal y reducción de la translocación bacteriana en hígado (Maguey et al., 2017).

En el presente trabajo se evaluó un extracto de sustancias húmicas (ESH) obtenida de una lombricomposta preparada con estiércol de animales domésticos como promotor del crecimiento en pollos de engorda.

## Metodología

**Extracción de SH** -- Se preparó una lombricomposta con excretas de borrego, el estiércol fue colectado y secado a temperatura ambiente, se añadió a la lombricomposta como fuente de alimento para las lombrices. Las excretas de lombriz (humus), fueron colectadas y se secaron a 35°C, una vez secas, fueron trituradas y procesadas para la extracción de las SH.

La extracción de SH a partir del humus se realizó con una serie de tres lavados consecutivos. En la primera fase se depositaron 100 kg de lombricomposta seca en una canaleta de lavado, los lavados se realizaron con 400 L de solución de hidróxido de sodio (NaOH 0.5M), 300 L (NaOH 0.1M) y 100 L de agua respectivamente, cada lavado se dejó reposar por 24 horas, se filtró y almacenó la fracción líquida de cada uno. El líquido colectado fue mezclado y homogenizado para verterse sobre canaletas de secado, a temperatura ambiente (35°C) durante 7 días. El sólido obtenido se introdujo en una estufa de aire forzado a 55°C durante 48

horas, posteriormente se molió con una criba de 0.2 mm de diámetro. Para conocer la concentración de AH y AF del extracto de SH se tomaron muestras del extracto líquido y se sometieron al procedimiento descrito por Stevenson et al. (1984).

La estructura y composición de los ácidos húmicos y fúlvicos fueron publicadas previamente (Domínguez et al., 2019).

## Metodología de la prueba productiva

-- El presente trabajo fue sometido a revisión ante el Comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro y fue aprobado con el folio número 108FCN2018. El experimento se llevó a cabo en Ajuchitlán, Querétaro.

Para la prueba productiva se utilizaron 1200 pollos de la línea Ross 308 de un día de edad. La caseta en donde se alojaron es de ambiente controlado de manera manual, con criadoras a base de gas. Durante la crianza la temperatura inicial fue de 32°C y se disminuyó de manera gradual a razón de 2°C por semana hasta alcanzar los 26°C a los 21 días. El programa de iluminación fue de 23 horas de luz por una de oscuridad los primeros siete días, a partir del día ocho tuvieron 20 horas de luz por cuatro de oscuridad, el agua y alimento fueron administrados *ad libitum* durante todo el ciclo productivo.

Los pollos se alojaron en 40 corrales de 1 x 1.5 m, cada corral fue acondicionado con 5 cm de cama de aserrín y un bebedero de campana. En cada corral se alojaron 30 pollos. Los corrales fueron asignados a 5 tratamientos de forma aleatoria y cada tratamiento tuvo ocho repeticiones. Los tratamientos usados fueron: Tx1 (control positivo) con antibiótico y coccidiostato, Tx2 0.0% de SH, Tx3 0.15% de SH, Tx4 0.30% de SH, Tx5 0.45% de SH.

En el Tx1 se utilizó Bacitracina Metileno Disalicilato (BMD) como antibiótico y nicarbacinina como coccidiostato en el periodo de 1 a 21 días, del día 22 al 42 se utilizó BMD como antibiótico y salinomicina como coccidiostato. En el Tx2 (control negativo) no se incluyó BMD ni coccidiostato. Considerando que el ESH tiene 70% de concentración, en los tratamientos con SH se agregaron 214, 428 y 642 g de extracto sólido de SH por cada 100 kg de alimento en el Tx3, Tx4 y Tx5 respectivamente.

El ciclo productivo fue dividido en tres fases, iniciación (día 1-14), crecimiento (día 15-28), y de finalización del día 29 al 42. Las dietas fueron elaboradas a base de maíz y soya.

Los pollos fueron pesados al día 1, 14, 28 y 42 de edad, con estas mediciones se estimó la ganancia de peso por periodo, así como del ciclo productivo completo. Se registró el consumo de alimento por periodo y del ciclo productivo completo y se calculó la conversión alimenticia.

Al día 10, 24 y 38 de edad, tres pollos de cada corral fueron sacrificados. Las pechugas y la canal (pechuga, muslos y piernas sin piel) fueron pesadas en gramos y se estimó su rendimiento. Las tibias se procesaron para la determinación de materia seca y cenizas.

El contenido de los yeyunos fue colectado en bolsas estériles para su siembra y conteo de bacterias lácticas (BAL). Para ello se realizaron diluciones seriadas de la primera a la séptima, 100 µl de cada tubo fueron sembrados en cajas de Petri con agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS DIBCO S.A de C.V). Las cajas fueron incubadas a 35°C por 48 horas con una atmósfera de microaerofilia (5% O<sub>2</sub>), utilizando jarras de anaerobiosis y sobres para microaerofilia (Gas-Pak Ez, BD Diagnostics, Sparks MD, USA) (Rondón et al., 2018; Jin et al., 1996). Los resultados fueron expresados en log<sub>(10)</sub> de unidades formadoras de colonia (log<sub>(10)</sub> UFC/g).

Los duodenos y los yeyunos se colectaron en recipientes con formol bufferado al 10% para su posterior procesamiento histológico con la técnica de inclusión en parafina y tinción con Hematoxilina y Eosina. Se midió el alto y ancho de vellosidades, y se calculó el área de superficie (ancho x altura /2) (Nabuurs et al. 1993; Taklimi et al., 2012).

Para determinar el número de oocistos excretados por gramo de heces, dos pollos por corral fueron colocados en una jaula de reja de metal elevada, a la que se les colocó debajo del piso un charola cubierta con bolsa de plástico, las heces fueron colectadas con cucharillas estériles y se depositaron en bolsas wirl-pack con

una proporción de 50/50 de solución de dicromato de potasio. Para realizar el conteo de oocistos se depositaron 2 gr de heces en frascos de centrifuga de 50 ml con 40 ml de solución salina sobresaturada, se tomó líquido y se llenó la cámara de Mc Master, se cuantificaron los oocistos por celda con el objetivo 10X. El resultado se multiplicó por 100 y se dividió entre dos para expresarse en oocistos por gramo de heces.

A los 42 días se sacrificaron 3 pollos por corral y las pechugas (40 por tratamiento) fueron procesadas para determinar la calidad de la carne mediante las pruebas de pH, colorimetría, pérdida de agua por goteo, pérdida de agua por compresión, 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH), Potencial reductor del hierro (FRAP) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

## Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó a través de un análisis de varianza de una vía, con un modelo completamente al azar:  $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$ , en donde  $Y_{ij}$  son los valores de las variables de respuesta,  $\mu$  la media general,  $\alpha_i$  el efecto del  $i$ ésimo tratamiento y  $e_{ij}$  el valor del error. Para determinar la diferencia entre tratamientos se utilizó el método de la mínima diferencia. El tipo de respuesta a la suplementación de SH, lineal, cuadrática y cúbica se obtuvo a través de ecuaciones de regresión.

# Resultados y Discusión

**Cuadro 1. Comportamiento productivo por efecto de los diferentes tratamientos**

	Control positivo	SH %				EEM <sup>a</sup>	P <	Efectos de SH		
		0.00	0.15	0.30	0.45			Lin	Cuad	Cub
Peso corporal, kg										
Peso al día 1, kg	44.5	44.7	44.5	44.3	44.0	0.259	0.33	0.24	0.94	0.92
Peso al día 14, kg	418.4	432.9	431.6	426.3	421.6	6.122	0.40	0.19	0.80	0.88
Peso al día 28, kg	1323	1327	1313	1295	1314	15.504	0.65	0.44	0.31	0.55
Peso al día 42, kg	2600	2497	2555	2491	2510	25.682	0.29	0.74	0.28	0.14
<b>Comportamiento productivo de 1-14 días de edad</b>										
Consumo de alimento, g/d	40.5 <sup>bc</sup>	41.9 <sup>b</sup>	41.6 <sup>bc</sup>	40.8 <sup>bc</sup>	40.1 <sup>c</sup>	0.573	0.17	0.03	0.78	0.78
Ganancia de peso, g/d	26.7	27.7	27.6	27.3	27.0	0.436	0.42	0.22	0.80	0.88
Conversión alimenticia	1.52	1.51	1.50	1.50	1.49	0.024	0.93	0.48	0.94	0.94
<b>Comportamiento productivo de 15-28 días de edad</b>										
Consumo de alimento, g/d	122.1	118.4	119.0	118.8	119.1	1.658	0.53	0.80	0.95	0.86
Ganancia de peso, g/d	64.6	63.8	63.0	62.1	63.8	1.062	0.51	0.81	0.23	0.57
Conversión alimenticia	1.89	1.86	1.89	1.92	1.87	0.026	0.58	0.65	0.17	0.60
<b>Comportamiento productivo de 29-42 días de edad</b>										
Consumo de alimento, g/d	218.5 <sup>b</sup>	215.8 <sup>b</sup>	204.5 <sup>c</sup>	199.3 <sup>c</sup>	203.8 <sup>c</sup>	3.097	0.05	0.05	0.01	0.44
Ganancia de peso, g/d	91.2	83.6	88.7	85.4	85.4	1.582	0.12	0.47	0.10	0.23
Conversión alimenticia	2.40 <sup>d</sup>	2.58 <sup>e</sup>	2.31 <sup>f</sup>	2.34 <sup>de</sup>	2.39 <sup>de</sup>	0.045	0.01	0.05	0.01	0.10
<b>Comportamiento productivo de 1-42 días de edad</b>										
Consumo de alimento, g/d	127.0 <sup>d</sup>	125.4 <sup>de</sup>	121.7 <sup>ef</sup>	119.6 <sup>f</sup>	121.0 <sup>f</sup>	1.458	0.01	0.05	0.10	0.79
Ganancia de peso, g/d	60.8	58.4	59.8	58.3	58.7	0.577	0.29	0.72	0.28	0.14
Conversión alimenticia	2.09 <sup>de</sup>	2.15 <sup>d</sup>	2.04 <sup>e</sup>	2.05 <sup>e</sup>	2.06 <sup>e</sup>	0.021	0.01	0.05	0.01	0.05

El peso final no mostro diferencias significativas entre tratamientos ( $p \geq 0.05$ ). Durante el periodo de 1 a 14 y 15 a 28 días de edad no hubo diferencias significativas entre tratamientos. En el periodo de 29 a 42 días de edad, el consumo alimenticio fue menor en el grupo tratado con 0.30% de SH ( $p \geq 0.05$ ) que el resto de los grupos y el grupo con 0.15% de SH presentó la menor conversión alimenticia ( $p \geq 0.01$ ). En el periodo de 1-42 días el grupo que presentó el menor consumo alimenticio fue el tratado con 0.30% de SH ( $p \geq 0.01$ ), la conversión alimenticia más bajase presentó en el grupo tratado con 0.15% de SH ( $p \geq 0.01$ ). La ganancia diaria de peso no presentó diferencias entre tratamiento en ninguno de los tres peri-

odos. El peso y rendimiento de la pechuga y la canal no presentaron diferencia significativa al igual que el contenido de materia seca y cenizas de la tibia.

En algunos estudios se han observado reducciones del consumo de alimento en pollos alimentados con cantidades crecientes de SH en el agua de bebida (Ozturk et al., 2010) o en el alimento (Ozturk et al., 2012), pero en otros estudios no se reportaron diferencias en el consumo de alimento debido a la suplementación de SH en el agua o el alimento (Kocabağlı et al., 2002; Taklimi et al., 2012; Gómez-Rosales y Ángeles, 2015). Sin embargo, en todos estos reportes se encontró disminución de la con-

versión alimenticia en pollos suplementados con las SH (Kocabağli et al., 2002; Ozturk et al., 2010; Ozturk et al., 2012; Taklimi et al., 2012; Gómez-Rosales y Angeles, 2015).

En algunos estudios se han reportados incrementos de la ganancia de peso y peso corporal en los pollos suplementados con SH (Kocabağli et al., 2002; Ozturk et al., 2012; Taklimi et al., 2012), lo cual no se observó en la presente investigación, esto se podría explicar por el menor consumo de alimento

En la Figura 1, se muestran los conteos de las UFC ( $\log_{10}$ ) de *Lactobacillus* a los días 10, 24 y 38 de edad por efecto de los diferentes tratamientos. En el conteo realizado a los 10 días de edad, el grupo control positivo fue estadísticamente igual que los grupos tratados con 0.0, 0.15 y 0.30% de ESH pero fue menor ( $p \leq 0.05$ ) que el grupo tratado con 0.45% de ESH. Al día 24 y 38 de edad, no hubo diferencia significativa entre el grupo control y los grupos tratados con ESH.

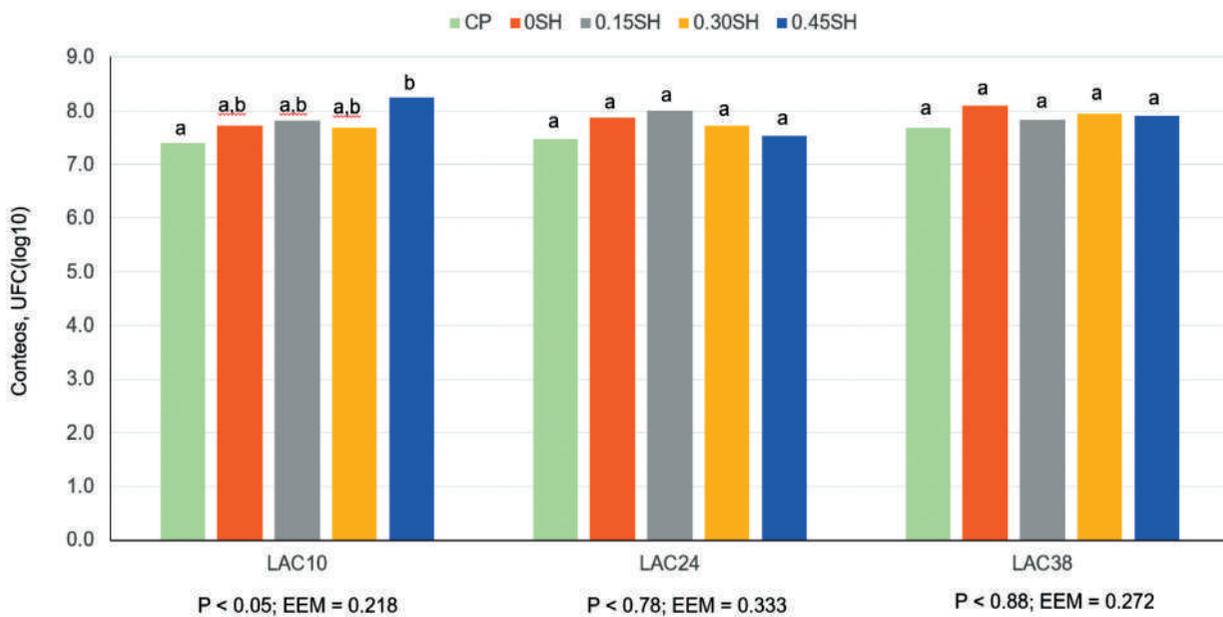


Figura 1. Conteos de las UFC ( $\log_{10}$ ) de *Lactobacillus* a los días 10, 24 y 38 de edad por efecto de los diferentes tratamientos.

La excreción de oocistos de coccidias a los días 10, 24 y 38 de edad no mostró diferencia significativa entre el grupo control y los grupos tratados con ESH en ninguno de los tres periodosevaluados.

**Cuadro 2. Evaluación de las vellosidades de duodeno y yeyuno.**

Evaluación de vellosidades a los 10 días de edad							
DUODENO	control positivo	0 % SH	0.15 % SH	0.30% SH	0.45% SH	EEM	P
Alto	591.7 <sup>a</sup>	661.9 <sup>b</sup>	639.2 <sup>b</sup>	661 <sup>b</sup>	611.7 <sup>c</sup>	10.611	0.01
Ancho	90.5	93.6	87.3	92.9	97.3	2.918	
Área	26,856 <sup>a</sup>	31,137 <sup>c</sup>	27,961 <sup>ab</sup>	30644 <sup>bc</sup>	30033 <sup>bc</sup>	1083	0.05
YEYUNO							
Alto	332.3 <sup>b</sup>	315.9 <sup>b</sup>	365.8 <sup>c</sup>	329.2 <sup>b</sup>	317.3 <sup>b</sup>	7.028	0.01
Ancho	76.2 <sup>a</sup>	75.7 <sup>a</sup>	72.6 <sup>a</sup>	94.5 <sup>c</sup>	84.5 <sup>b</sup>	2.374	0.01
Área	12798 <sup>a</sup>	12149 <sup>a</sup>	13477 <sup>a</sup>	15688 <sup>b</sup>	13498 <sup>a</sup>	546.192	0.01
Evaluación de vellosidades a los 24 días de edad							
DUODENO							
Alto	719.60 <sup>ac</sup>	705.98 <sup>ac</sup>	694.83 <sup>a</sup>	656.32 <sup>b</sup>	736.69 <sup>c</sup>	14.435	0.01
Ancho	96.27 <sup>abc</sup>	100.29 <sup>abc</sup>	93.78 <sup>b</sup>	99.65 <sup>abc</sup>	102.13 <sup>c</sup>	3.178	0.01
Área	35252 <sup>abc</sup>	36252 <sup>abc</sup>	33424 <sup>b</sup>	32529 <sup>b</sup>	37870 <sup>c</sup>	1525.67	0.01
YEYUNO							
Alto	413.34 <sup>a</sup>	440.35 <sup>b</sup>	474.41 <sup>c</sup>	445.94 <sup>b</sup>	435.08 <sup>ab</sup>	9.046	0.01
Ancho	64.02 <sup>a</sup>	76.93 <sup>b</sup>	80.63 <sup>b</sup>	79.94 <sup>b</sup>	78.49 <sup>b</sup>	2.268	0.01
Área	13147 <sup>a</sup>	17209 <sup>b</sup>	19297 <sup>c</sup>	17742 <sup>bc</sup>	17240 <sup>b</sup>	642.825	0.01
Evaluación de vellosidades a los 38 días de edad							
DUODENO							
Alto	538.03 <sup>ab</sup>	527.46 <sup>ab</sup>	554.30 <sup>b</sup>	509.30 <sup>a</sup>	546.82	13.061	0.05
Ancho	102.78	111.67	121.65	109.3	104.91	7.847	
Área	27710 <sup>a</sup>	29351 <sup>ab</sup>	35958 <sup>b</sup>	28013 <sup>ab</sup>	28593 <sup>ab</sup>	2639.73	0.05
YEYUNO							
Alto	754.73 <sup>ac</sup>	656.20 <sup>b</sup>	688.90 <sup>bc</sup>	710.51 <sup>c</sup>	711.75 <sup>c</sup>	18.398	0.01
Ancho	153.25 <sup>ac</sup>	144.1 <sup>b</sup>	143.38 <sup>bc</sup>	138.85 <sup>c</sup>	158.41 <sup>c</sup>	10.574	0.01
Área	59834 <sup>ac</sup>	48239 <sup>b</sup>	48714 <sup>b</sup>	47898 <sup>b</sup>	54807 <sup>bc</sup>	4074.7	0.01

En el periodo de 10 días de edad, la altura de las vellosidades del duodeno fue menor en el grupo control positivo que en los grupos 0, 0.15 y 0.30% de SH ( $p \leq 0.01$ ). El ancho de las vellosidades no presentó diferencia significativa entre los grupos ( $p \geq 0.05$ ). El alto de las vellosidades del yeyuno fue mayor en el grupo tratado con 0.15% de SH ( $p \leq 0.01$ ) y el ancho fue mayor en el grupo tratado con 0.30% de SH ( $p \leq 0.01$ ). El área de las vellosidades del duodeno, fue menor en el grupo control positivo y en

el grupo con 0.15% de SH ( $p \geq 0.05$ ). En el yeyuno, el área de las vellosidades fue mayor en grupo con 0.30% de SH ( $p \leq 0.01$ ).

En la evaluación a los 24 días de edad, la altura de las vellosidades en el duodeno fue menor en el grupo tratado con 0.30% de SH ( $p \leq 0.01$ ). El ancho de las vellosidades en el duodeno fue estadísticamente igual entre los grupos tratados con SH y el grupo control positivo ( $p \geq 0.05$ ). La altura de las vellosidades en

el yeyuno, fue mayor en el grupo tratado 0.15% de SH ( $p \leq 0.01$ ). El ancho de las vellosidades del yeyuno fue menor en el grupo control positivo que en los grupos tratados con SH ( $p \leq 0.01$ ). El área de las vellosidades intestinales en el duodeno fue estadísticamente igual entre el grupo control positivo y los grupos tratados con SH ( $p \leq 0.05$ ) y en el yeyuno el área fue mayor en el grupo tratado con 0.15% de SH ( $p \leq 0.01$ ).

En la evaluación de vellosidades intestinales realizada a los 38 días de edad, la altura y el ancho de las vellosidades no presentaron diferencia entre los grupos tratados con SH y el control positivo. La altura y el ancho de las vellosidades fue menor en grupo con 0% de SH ( $p \leq 0.01$ ). En el área de las vellosidades del duodeno, el grupo con 0.15% de SH fue mayor que el control positivo, pero igual al resto de los grupos ( $p \leq 0.05$ ). En el yeyuno el área de las vellosidades del grupo control positivo fue igual que el grupo con 0.45% de SH y ambas mayores que los demás grupos ( $p \leq 0.01$ ).

Los resultados de diversos estudios concuerdan entre sí, al demostrar un aumento en la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas con la inclusión de ácidos húmicos en las dietas de pollos de engorda (Diseth et al., 2017; Yasar et al., 2012). No obstante, el estudio realizado por Taklimi et al. (2012), mostró un aumento en la altura de las vellosidades del intestino delgado y una disminución en la profundidad de las criptas cuando se incluyeron ácidos húmicos en la dieta. El efecto de los ácidos orgánicos como el ácido húmico en el alimento de los pollos podría ser significativo para estimular la proliferación de las células de

las criptas normales, mejorando la renovación y el mantenimiento de tejidos sanos (Leeson et al., 2005; Panda et al., 2009).

## Conclusiones

La disminución en el consumo de alimento no afectó negativamente la ganancia de peso y mejoró la conversión alimenticia, lo que favorece a la producción avícola ya que pueden disminuir el costo de producción.

Esto puede deberse a que la estructura y composición de las SH pueden repercutir en el mejor aprovechamiento de los nutrientes disponibles, favorecer a las bacterias benéficas del intestino y promover la integridad de las vellosidades intestinales, por tales razones las SH pueden ser una alternativa útil para la producción avícola sin antibióticos.

## Literatura citada

- Stevenson, F.J. (1994) Humus chemistry: Genesis, composition, reactions. 2nd Edition, John Wiley, New York, 95-97. Wang Q, Chen Y, Yoo J, Kim H, Cho J, Kim I. (2008) Effect of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livest Sci.*; (117):270-274.
- Maguay, J.A., et al (2018). Effect of humic acids on intestinal viscosity, leaky gut and ammonia excretion in a 24 hours feed restriction

- model to induce intestinal permeability in broiler chickens. *J. Anim. Sci.* 89(7):1002-1010.
- Domínguez-Negrete, A., Gómez-Rosales, S., Angeles, M. de L., López-Hernández, L. H., Reis-de Souza, T. C., López- García, Y., Zavala-Franco, A., & Téllez-Isaias, G. (2019). Effect of the Addition of Humic Substances as Growth Promoter in Broiler Chickens Under Two Feeding Regimens. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/ani9121101>
- Gomez-Rosales, S., & de L. Angeles, M. (2015). Addition of a Worm Leachate as Source of Humic Substances in the Drinking Water of Broiler Chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 215–222. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0321>
- Kocabağlı, N., Alp, M., Acar, N., & Kahraman, R. (2002). The Effects of Dietary Humate Supplementation on Broiler Growth and Carcass Yield. *Poultry science*, 81, 227–230. <https://doi.org/10.1093/ps/81.2.227>
- Ozturk, E., Ocak, N., Coskun, I., Turhan, S., & Erener, G. (2010). Effects of humic substances supplementation provided through drinking water on performance, carcass traits and meat quality of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(1), 78–85. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00886.x>
- Ozturk, Ergin, Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., & Cankaya, S. (2012). Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 59–65. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4541>
- Taklimi, S. M. S. M., Ghahri, H., & Isakan, M. A. (2012). Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agricultural Sciences*, 03(05), 663–668. <https://doi.org/10.4236/as.2012.35080>

# La expresión de mi R-378 en tejido adiposo visceral humano se asocia con resistencia a la insulina

## **Estrella-Ibarra P.**

- Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

## **Cruz-Hernández A.**

- Escuela de Agronomía, Campus Campestre, Universidad de La Salle Bajío, León, Guanajuato. México.

## **Torres-Arreola A. K.**

- Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

## **Campos-Maldonado F.**

- Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

## **Rodríguez-Méndez, A. J.**

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

## **Patricia García, O.**

- Departamento de Nutrición Humana, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

## **Solís-Sáinz J. C.**

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

## **Aburto-Fernández, M. C.**

- Servicio de Cirugía General, Hospital General de Querétaro, Querétaro, México.

## **Lerma-Alvarado, R. M.**

- Servicio de Cirugía General, Hospital General de Querétaro, Querétaro, México.

## **García-Solís P.**

- Departamento de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.



# Introducción

La OMS define al sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. De acuerdo a datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en población adulta es del 75.2% (1).

La obesidad condiciona cambios en el tejido adiposo blanco (TAB) que contribuyen al desarrollo de RI. Cuando se excede la capacidad de almacén de los adipocitos del TAB, los ácidos grasos libres (AGL) se acumulan de forma ectópica en órganos y tejidos como el páncreas, hígado y músculo esquelético, contribuyendo con el desarrollo de RI (2). A su vez, la hipertrofia de los adipocitos compromete el flujo sanguíneo en estas células, lo que promueve su hipoxia y muerte por necrosis, esto favorece la infiltración de macrófagos los cuales forman estructuras de tipo corona alrededor del adipocito muerto. Los macrófagos liberan citosinas proinflamatorias como la interleucina 6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la proteína C reactiva (CRP), las cuales interrumpen la vía de señalización de la insulina (3,4). La obesidad también se asocia con cambios en la función endocrina del TAB, incrementa la expresión y secreción de leptina y disminuye la de adiponectina, todos estos cambios contribuyen con el desarrollo de RI (3).

La epigenética se define como cambios heredables en la expresión génica sin que existan modificaciones en el ADN. Entre los meca-

nismos epigenéticos se encuentran los miARN, los cuales se definen como un ARN no codificante, de una longitud de 20-23 nucleótidos, de expresión endógena y que actúan a un nivel post-transcripcional. Un miARN, reconoce la región 3'UTR de un mRNA, la interacción miARN-mRNA lleva a la degradación del mensajero o a la inhibición de su traducción (5). Por otra parte, es importante destacar que el control de la expresión génica por los miARN es compleja, ya que un solo miARN puede regular hasta 1000 genes y un solo gen puede ser regulado por diferentes miARN (6). Estudios realizados con tecnología de análisis masivos, han encontrado miARN diferencialmente expresados en TAB humano asociados al exceso de grasa corporal (7,8). Arner et al. encontraron una reducción de la expresión de miR-378 en tejido adiposo subcutáneo (TAS) de sujetos con obesidad (8). Por otro lado, se ha reportado un aumento en la expresión de miR-378 durante la diferenciación de adipocitos en TAS (9). También, se ha encontrado que este miARN podría regular la expresión de adiponectina, al unirse a la región 3'UTR de su mensajero (10). Por lo tanto, el objetivo de estudio fue analizar la expresión de miR-378 en TAV humano y su asociación con exceso de grasa corporal y RI.

## Metodología

Estudio transversal comparativo, en el cual se invitó a participar a mujeres y hombres adultos de 18 a 60 años de edad, los cuales fueron intervenidos por cirugía electiva (funduplicatura de Nissen y colecistectomía abierta o laparoscopia)

en el Hospital General del Estado de Querétaro. Todos los participantes recibieron información tanto oral como escrita de los procedimientos del estudio y se les dio a firmar una carta de consentimiento informado. Los sujetos fueron clasificados en tres grupos de estudio; sujetos normopeso sin resistencia a insulina (NR, n= 10), sujetos con sobrepeso y obesidad sin resistencia a la insulina (SOB/OB sin RI, n= 10) y sujetos con sobrepeso y obesidad corporal con resistencia a la insulina (SOB/OB con RI, n= 9).

Se tomaron medidas antropométricas que incluyeron el peso, la talla, circunferencia de cintura y circunferencia de cadera. La determinación del porcentaje de grasa corporal total se hizo mediante bioimpedancia eléctrica. De acuerdo a los criterios de la OMS, los participantes se clasificaron en normopeso (IMC 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>), sobrepeso (25.0-29.9 kg/m<sup>2</sup>) y obesidad (30.0-39.9 kg/m<sup>2</sup>).

Se tomó una muestra de sangre en ayunas mediante punción venosa. La determinación de glucosa, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos se hizo mediante espectrofotometría automatizada. El análisis de insulina se hizo mediante un ensayo de ELISA. La resistencia a la insulina se calculó mediante el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) utilizando la calculadora HOMA2 (v2.2.3) de ©Diabetes Trials Unit, University of Oxford. Para definir resistencia a la insulina se tomó un punto de corte  $\geq 2.50$  (11). La determinación de leptina, adiponectina, TNF- $\alpha$ , IL-6 y CRP se hizo mediante un ensayo de ELISA.

La toma de la biopsia de epiplón la hizo el

cirujano encargado del procedimiento quirúrgico. Una vez obtenida la biopsia se lavó con solución salina estéril, se cortó en trozos pequeños, se guardó en sobres de papel aluminio y se congeló en nitrógeno líquido hasta su transporte al Laboratorio de Endocrinología y Nutrición donde la muestra se almacenó a -80°C para su posterior análisis. Para la extracción de ARN, se pesó alrededor de 100 mg de tejido, las muestras fueron molidas con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. La extracción se hizo con TriZol (TRIzol™ Reagent, Invitrogen) de acuerdo las indicaciones del fabricante. La cuantificación se hizo mediante espectrofotometría utilizando un NanoDrop (Thermo Scientific™ ONE, Wilmington). Finalmente se verificó la integridad por electroforesis con geles de agarosa al 2%. El análisis de miR-378 se hizo de acuerdo a la metodología Stem-Loop RT-qPCR, propuesta por Chen *et al* (12). El diseño de los cebadores se realizó de acuerdo a Czimmerer *et al* (13). Las secuencias maduras para el miARN se tomaron de la base de datos de miRBase; hsa-miR-378 (MIMAT0014999). El análisis del mensajero de adiponectina (ADIPOQ) se hizo mediante q-PCR. La expresión génica se calculó utilizando el método  $\Delta\Delta C_t$ , se utilizó RNU6 para normalizar la expresión de miR-378 y actina para normalizar la expresión de ADIPOQ.

Para analizar las diferencias en las variables antropométricas, metabólicas y la expresión diferencial de miR-378 se utilizó un análisis de la varianza ANOVA con un Post-hoc de Tukey y una t de Student. Se utilizaron correlaciones parciales de Pearson para medir la asociación entre la expresión de miR-378 con las variables

metabólicas y el mRNA de ADIPOQ. La significancia estadística se estableció con un valor de  $P < 0.05$ .

## Resultados y discusión

En relación a las variables antropométricas y de composición corporal, como era de esperarse, los sujetos con SOB/OB con y sin RI, tuvieron mayor IMC, porcentaje de grasa corporal y circunferencia de cintura que el grupo NR ( $P < 0.05$ ). En relación a las variables metabólicas, el grupo de sujetos con SOB/OB y RI, presentaron mayores niveles de insulina y HOMA-IR en comparación con los SOB/OB sin RI y los NR ( $P < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas en glucosa sérica y el perfil de lípidos entre los grupos de estudio. Los sujetos NR presentaron menores concentraciones de CRP ( $P = 0.035$ ), leptina ( $P = 0.005$ ), IL-6 ( $P = 0.037$ ) y mayores concentraciones de adiponectina ( $P = 0.026$ ) en comparación con los sujetos con SOB/OB con RI, pero similares a los sujetos con SOB/OB sin RI. No se encontraron diferencias en las concentraciones de TNF- $\alpha$  entre los grupos de estudio.

Diferentes estudios han utilizado tecnología de análisis masivos para determinar miARN diferencialmente expresados en TAB asociados a la acumulación de grasa corporal (7,8). Arner *et al.* encontraron una reducción de la expresión de miR-378 en TAS (8). En este estudio no se encontraron diferencias en la expresión de miR-378 entre tres grupos de estudio; sin embargo, cuando el análisis se realizó de acuerdo al diagnóstico de IR, se observó una tendencia

en la reducción de miR-378 en grupo de sujetos con IR ( $P = 0.05$ ). Se realizaron modelos de correlación parcial de Pearson para analizar la asociación entre la expresión de miR-378 con las variables metabólicas. Se encontró una asociación negativa entre la expresión de este miARN con las concentraciones de insulina ( $r = -0.441$ ,  $P = 0.035$ ), HOMA-IR ( $r = -0.433$ ,  $P = 0.035$ ) y leptina ( $r = -0.575$ ,  $P = 0.004$ ), los análisis fueron ajustados por sexo, edad y porcentaje de grasa corporal.

La adiponectina es una adipocitocina que posee propiedades antidiabéticas y antiinflamatorias (14). La hipoadiponectemia se ha asociado al RI, diabetes mellitus 2 (DM2), hipertensión arterial, síndrome metabólico, dislipidemias y enfermedades cardiovasculares (15). Ishida *et al.* reportaron que el miR-378 podría estar involucrado en el control de la expresión de la adiponectina al unirse a la región 3'UTR de su mensajero. En este estudio, no se encontró asociación entre la expresión de miR-378 con las concentraciones de adiponectina ( $r = 0.127$ ,  $P = 0.562$ ) y el mRNA de adiponectina ( $r = 0.122$ ,  $P = 0.546$ ). La adiponectina se expresa de forma predominante en el TAS, el mRNA de adiponectina es 33% menor en TAV comparado con SAT (16). Las diferencias con lo anteriormente reportado, podrían deberse a que el análisis del mRNA de adiponectina se hizo en TAV. De acuerdo a Ortega *et al.* miR-378 incrementa su expresión durante la diferenciación de adipocitos en TAS (9). Se reportó un aumento en la proporción de adipocitos viscerales pequeños en sujetos con DM2, la expansión del TAV se asocia con RI (17). Al igual que

en el SAT, miR-378 podría estar involucrado en la hiperplasia en el VAT contribuyendo con el desarrollo de RI.

## Conclusiones

La expresión de miR-378 en tejido adiposo visceral humano está asociada con la resistencia a la insulina, posiblemente mediante un mecanismo independiente de la expresión de adiponectina.

## Literatura citada

1. Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Herdía-Hernández O, Romero-Martínez M, Mojica-Cuevas J, Cuevas-Nasu L, *et al.* Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. Cuernavaca, México.
2. Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2010. 1(3):68-75.
3. Zou C, Shao J. Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J Nutr Biochem.* 2008. 19:277-286.
4. Dalmas E, Clément K, Guerre-Millo M. Defining macrophage phenotype and function in adipose tissue. *Trends Immunol.* 2011. 32(7):307-314.
5. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005. 6(5):376-85.
6. Shu J, Vieira B, Gao T, Xu Z, Cui J. Dynamic and Modularized MicroRNA Regulation and Its Implication in Human Cancers. *Sci Rep.* 2017.1-17.
7. Meerson A, Traurig M, Ossowski V, Fleming JM, Mullins M, Baier LJ. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF- $\alpha$ . *Diabetologia.* 2013. 56(9):1971-1979.
8. Arner E, Mejhert N, Kulyté A, Balwierz PJ, Pachkov M, Cormont M, *et al.* Adipose tissue MicroRNAs as regulators of CCL2 production in human obesity. *Diabetes.* 2012. 61(8):1986-1993. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Pardo G, Sabater M, Hummel M, Ferrer A, *et al.* MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation. *PLoS One.* 2010. 5(2) e9022.
9. Ishida M, Shimabukuro M, Yagi S, Nishimoto S, Kozuka C, Fukuda D, *et al.* MicroRNA-378 regulates adiponectin expression in adipose tissue: A new plausible mechanism. *PLoS One.* 2014. 9(11):3-10.
10. Acaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing Insulin Resistance by Simple. *Diabetes Care.* 2003. 26(12):3320-3325.
11. Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, *et al.* Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. 2005. 33(20):1-9.
12. Czimmerer Z, Hulvely J, Simandi Z, Varallyay E, Havelda Z, Szabo E, *et al.* A Versatile Method to Design Stem-Loop Primer-Based Quantitative PCR Assays for Detecting Small Regulatory RNA Molecules. *PLoS One.* 2013.8(1) e55168.

13. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Adiponectin : Probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. 2015. 6(1):151–166.
14. Hossain M, Mukheem A, Kamarul T. The prevention and treatment of hypoadiponectinemia-associated human diseases by up-regulation of plasma adiponectin. Life Sci. 2015. 15(135):55-67
15. Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. Mol Cell Endocrinol. 2004. 219(1–2):9–15.
16. Fang L, Guo F, Zhou L, Stahl R, Grams J, Fang L, *et al*. The cell size and distribution of adipocytes from subcutaneous and visceral fat is associated with type 2 diabetes mellitus in humans. Adipocyte. 2015. 3945:273–279.

# Asociación entre el cronotipo y factores de riesgo asociados al síndrome metabólico en jóvenes universitarios

*Gómez Moreno, R.*

*Aguilar Galarza, A. B.*

*Ronquillo González, D.*

*López Martínez, F. J.*

*Silva Barrón, C. I.*

*Anaya Loyola, M. A.*

Especialidad en Nutrición, Activación física y Salud.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

El síndrome metabólico es el conjunto de alteraciones metabólicas que son consideradas como factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes; esta condición representa en la actualidad un importante problema de salud pública a causa del constante incremento en su prevalencia, en gran parte debido al aumento en las tasas de obesidad y sobrepeso en población de niños y jóvenes como consecuencia de la tendencia hacia hábitos no saludables caracterizados por una alimentación deficiente y la falta de ejercicio físico regular. Esta situación resulta alarmante dado que los grupos de riesgo para el diagnóstico de este padecimiento cada vez son en edades más tempranas. En los últimos años se han realizado diversas investigaciones acerca de la relación de los cronotipos con alteraciones metabólicas, observando que el cronotipo vespertino o tardío está más asociado con complicaciones de salud, entre ellas la obesidad y sobrepeso, ansiedad, depresión y diabetes, entre otras; siendo asociado a hábitos deficientes de alimentación y actividad física. Se ha encontrado también en la literatura que los cronotipos vespertinos presentan una menor actividad física durante el día a diferencia de los cronotipos matutinos. En el mismo sentido, el sedentarismo es considerado un importante factor asociado a la aparición del síndrome metabólico. Asimismo, los cronotipos más apegados a la tarde guardan relación con un consumo deficiente de alimentos, caracterizado por un aporte calórico excesivo, tiempos de comida tardíos y un bajo consumo de fibra, lo cual

se asocia con el aumento de peso y por consecuencia un factor de riesgo aumentado para la presencia de alteraciones metabólicas.

## Metodología

Se utilizó un diseño de estudio observacional transversal, la población estudio fueron estudiantes participantes del Sistema Universitario de Salud de la Universidad Autónoma de Querétaro (SUSALUD), que contaban con información sobre valores bioquímicos de glucosa, colesterol HDL, triglicéridos; circunferencia de cintura, alimentación, actividad física y cronotipo. Se hizo uso de la base de datos del programa SUSALUD de la Universidad Autónoma de Querétaro, el cual tiene como objetivo valorar integralmente a su comunidad estudiantil universitaria. Lo anterior para la obtención de información de las variables a analizar, que se describen a continuación.

## Evaluación integral

Para fines del presente estudio las áreas de evaluación que fueron tomadas del programa SUSALUD son las siguientes:

Mediciones antropométricas: peso, estatura, circunferencia de cintura y cadera.

Análisis bioquímicos: se hizo una biometría hemática y una química sanguínea de 6 elementos: glucosa, colesterol total, triglicéridos, creatinina, albúmina, HDL y LDL se calculó con la fórmula de Fridelwald.

Hábitos alimenticios: por medio de frecuencias de consumo de alimentos y cuestionario de hábitos de alimentación.

Evaluación física: se identificó la fuerza muscular, agilidad, resistencia y flexibilidad del individuo, con el fin de proponer actividades deportivas para el mejoramiento postural y de fuerza física. Lo anterior utilizando el Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ).

Cronotipo: para la determinación del cronotipo de los estudiantes se utilizó el cuestionario MEQ (Morningness Evenings Questionnaire).

ra los valores con  $p < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos. Se encontró que el Índice de Masa Corporal en promedio, es mayor en los jóvenes con cronotipo nocturno, así como la circunferencia de cintura y de cadera, lo cual coincide con datos reportados con anterioridad, señalando que es debido a factores de hábitos deficientes en la alimentación y la falta de actividad física (Arora & Taheri, 2015; Valladares et al., 2016).

El porcentaje de grasa corporal también se ve aumentado en el grupo nocturno respecto al promedio, esto pudiera estar relacionado con el exceso de peso que eleva el IMC, causado igualmente por hábitos deficientes de alimentación; así mismo se encontraban elevados la masa muscular y la grasa visceral.

## Resultados

Se utilizó un análisis a través de las medias con un nivel de significancia de 0.05, de esta mane-

**Cuadro 1. Datos bioquímicos y presión arterial de los jóvenes universitarios.**

	Total			Diurno			Intermedio			Nocturno			Valor de P
	Media	±	DE	Media	±	DE	Media	±	DE	Media	±	DE	
PA sistólica, mmHg	109.7	±	10.0	108.4	±	8.8	110.0	±	10.2	110.1	±	11.7	0.0712
PA diastólica, mmHg	72.3	±	38.7	69.4 <sup>a</sup>	±	6.1	70.9 <sup>a</sup>	±	7.7	94.2 <sup>b</sup>	±	142.0	0.0007
Glucosa, mg/dL	81.7	±	15.5	81.4	±	11.2	81.9	±	17.1	81.5	±	7.3	0.9628
Triglicéridos, mg/dL	109.6	±	56.5	106.4	±	55.0	110.4	±	55.3	110.7	±	71.3	0.7941
Colesterol HDL, mg/dL	50.8	±	12.1	51.6	±	10.7	50.6	±	12.6	50.0	±	10.2	0.6759

PA: Presión arterial, mg/dL: miligramos por decilitro, DE: desviación estándar.

Se encontró que, de los parámetros alterados relacionados con el síndrome metabólico, un 5% presentaban la presión arterial sistólica alterada, un 11% la diastólica alterada, un 12% mostraba riesgo cardiovascular según su dato de circunferencia de cintura, 8 jóvenes tenían un nivel de glucosa alto, el 17% niveles altos de triglicéridos en sangre y el 15% niveles por debajo de los recomendados de colesterol HDL. Es así que los resultados indican que, a pesar de ser reducida la prevalencia de síndrome metabólico en los jóvenes de la muestra, los porcentajes de valores alterados son significativos, por lo cual deben ser vigilados y tratados para evitar complicaciones futuras.

En cuanto al consumo de macronutrientes en la dieta diaria, todas las medias presentan porcentajes muy parecidos de ingesta de proteínas (Media total 16.9%). En la literatura se establecen como objetivos nutricionales de un 45% a 65% de carbohidratos, de 10% a 15% de proteínas, de 20% a 35% de lípidos (Irazusta Astiazaran et al., 2007). El grupo de los nocturnos en este estudio mostraban un mayor consumo de lípidos (33.5%) y los diurnos el mayor consumo de carbohidratos (52.2%); sin embargo, exceptuando el porcentaje de proteínas consumido en promedio por los universitarios, los valores reportados se encuentran dentro de las recomendaciones propuestas con anterioridad.

Además, los de cronotipo nocturno representaba el grupo con menor consumo de fibra de los tres (28.6 g/d), comparado con las recomendaciones de 26 gramos al día para mujeres y 36 gramos para hombres (Porter & Nor-

thoff, 2013), resulta deficiente la cantidad de fibra consumida por los universitarios, a pesar de que no se divide por sexo el dato. El grupo intermedio tenía el mayor consumo de azúcar en la dieta diaria, el nocturno un consumo mayor de grasas saturadas que se marca con una diferencia considerable; así como el consumo de colesterol que se encuentra por encima de los otros grupos.

Del total de la población, el 3% cumplía con 3 parámetros para ser diagnosticados con Síndrome metabólico, lo que representa a 17 estudiantes; sin embargo, como se aprecia en la Figura 2, cerca de la mitad (48%) cuenta con al menos un parámetro de los establecidos para el diagnóstico de síndrome por el ATP III (Fernández Travieso, 2016), lo cual resulta alarmante cuando se habla de jóvenes con la presencia de estos factores que los predisponen a padecimientos como la diabetes, enfermedades cardiovasculares, entre otras (Yu et al., 2015).

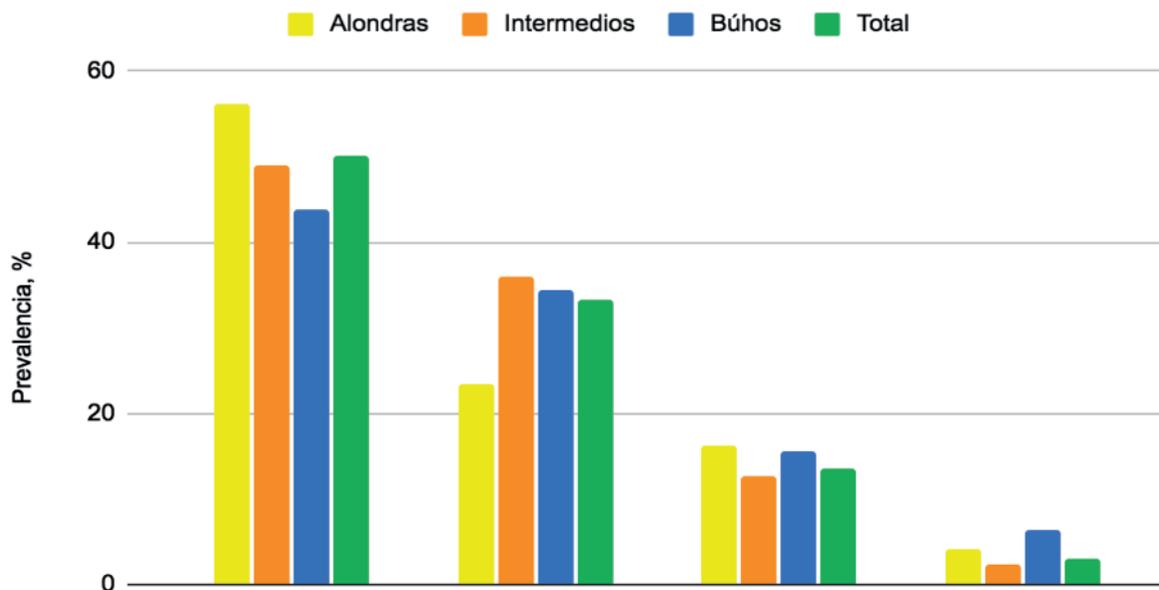


Figura 1. Criterios para diagnóstico de Síndrome metabólico.

La clasificación por cronotipo se muestra en la Figura 3, donde se puede observar que predominaba el cronotipo intermedio con un 70% (416 estudiantes), seguido por el diurno (119) y finalmente el nocturno con sólo el 7% del total (42); así mismo se identificaron estudiantes que no contaban con esta información, por lo que se ubican en la gráfica como dato perdido. Los porcentajes son similares a datos reportados anteriormente, donde predomina en gran parte el cronotipo intermedio (78%) (Valladares et al., 2016).

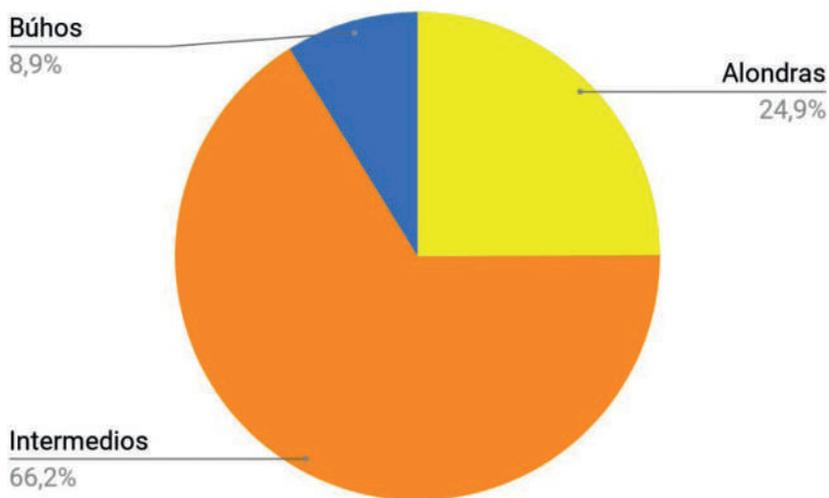


Figura 2. Clasificación por cronotipo.

En la Figura 4 se presenta la prevalencia de Síndrome metabólico por cronotipo, siendo que del 100% de universitarios con este padecimiento, la mayoría (67%) pertenecen al grupo intermedio; sin embargo, es importante remarcar que de la muestra total de la población,

predominan los estudiantes con cronotipo intermedio con una gran diferencia respecto a los otros dos grupos, por lo cual no representa una diferencia significativa para establecer que el síndrome está más relacionado con este grupo.

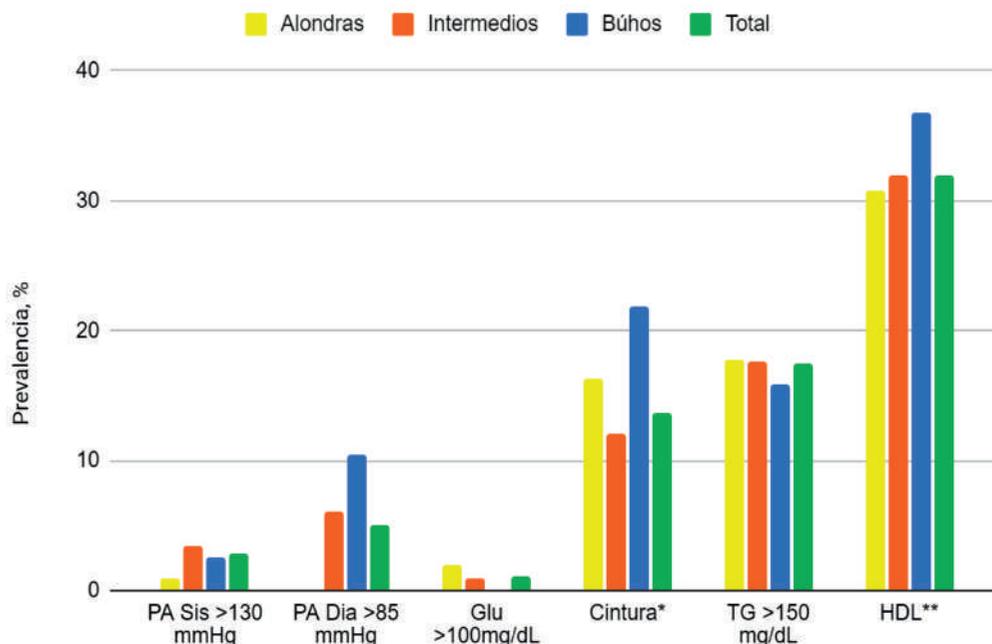


Figura 3. Prevalencia de factores de síndrome metabólico de acuerdo al cronotipo de los participantes

Respecto a los datos dietéticos de la población en general, se encontró que un 55% presentaban un consumo elevado de lípidos, además cerca de la tercera parte mostraba un bajo consumo de fibra en su dieta y relacionado con lo descrito anteriormente en las Cuadros de consumo promedio, casi en el total de los universitarios (99%) prevalecía un elevado consumo de azúcar.

En cuanto al cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ Group, 2002) se pue-

de apreciar en la Figura 6 que prevalece un nivel de actividad física bajo en todas las secciones que establece el cuestionario (recreación, casa, transporte y trabajo); no obstante, se puede distinguir que el nivel de actividad física alto prevalece sobre el moderado en 3 de las 4 secciones y que la mayor actividad física reportada por los universitarios es realizada para transportarse (37.4%), seguida de las actividades de recreación (30.8%), valores que resultan de la suma de actividad física moderada y alta de cada sección.

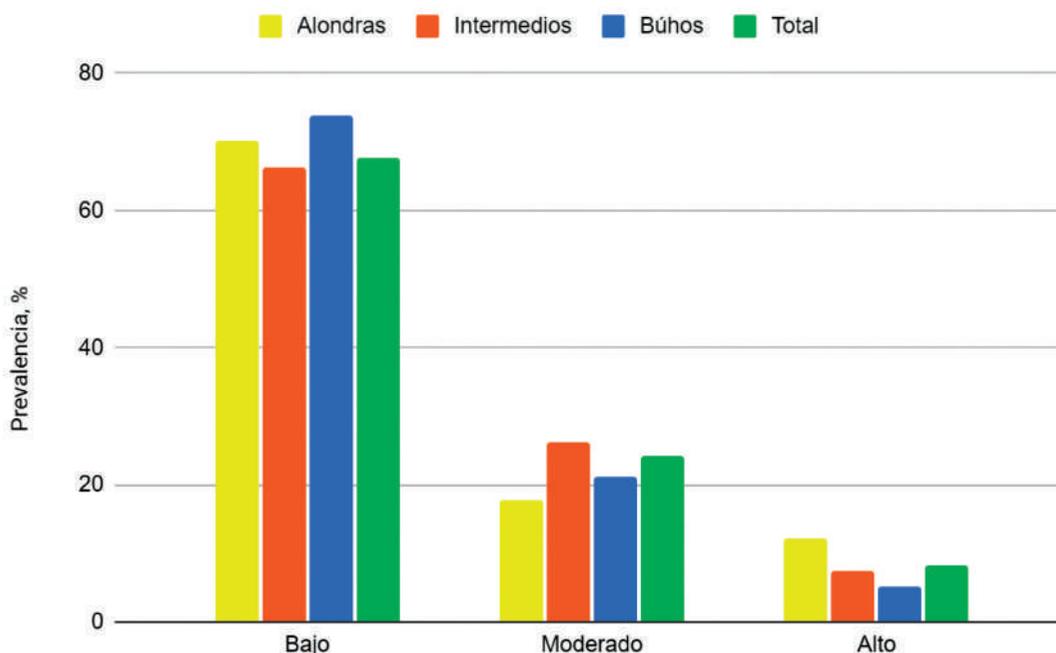


Figura 4. Nivel de actividad física por cronotipo

Síndrome metabólico, siendo que en todos los grupos predomina un nivel bajo; sin embargo, se puede apreciar que el nivel va decayendo conforme va aumentando el número de criterios.

## Conclusiones

En conclusión, los jóvenes con cronotipo nocturno se asocian a la presencia de algunos factores indicadores para el diagnóstico del síndrome metabólico, tales como la circunferencia de cintura y la presión arterial diastólica alteradas. Así mismo este grupo presentó un porcentaje de grasa mayor a los otros grupos y un mayor consumo de lípidos en la dieta, donde también se observó un consumo más elevado de grasas saturadas y colesterol, así como un bajo consumo de fibra, estas variables que guardan una estrecha relación entre sí y además pueden asociarse con el aumento en la circunferencia de cintura, el peso corporal, los niveles de tri-

glicéridos y colesterol en sangre, que a su vez predisponen a la prevalencia del síndrome.

En la misma dirección se puede destacar, para este estudio, el consumo elevado de azúcar en la dieta por parte de los jóvenes universitarios en general, lo cual resulta un punto importante de atención para la prevención de algunas enfermedades de importancia como la diabetes, la resistencia a la insulina, entre otras y posibles complicaciones a mediano y largo plazo. También se destaca que uno de cada dos estudiantes cuenta con al menos un parámetro para el diagnóstico del síndrome metabólico, además de otras variables que aumentan el riesgo de padecerlo, situación que indica otra área de oportunidad para corregir y/o mejorar hábitos que favorezcan al estado de salud de los universitarios.

La activación física figura también como uno de los factores que en niveles adecuados, contribuya a reducir el riesgo de contraer enfermedades metabólicas, entre ellas el síndrome

metabólico. En la población del estudio la actividad física es en su mayoría deficiente en todas las áreas estudiadas, donde se observa una relación proporcional entre una baja actividad con un mayor número de factores relacionados al síndrome metabólico, presentes en los universitarios.

Por lo tanto, se puede concluir que el estudio realizado puede contribuir en el desarrollo de enfermedades metabólicas, identificando de manera oportuna los factores que representan un foco para la prevención y tratamiento de las mismas, siendo que con una alimentación adecuada y un nivel óptimo de activación física se puede conseguir un impacto positivo en el estilo de vida de los jóvenes para que en un futuro a corto, mediano y largo plazo se eviten enfermedades y múltiples complicaciones, y así se alcance un periodo de vida pleno e integral más prolongado.

## Literatura citada

- Aguilar y Bascompte, J. L., Wajcman, H., Poyart, C., & Labie, D. (2013). Hemoglobin Barcelona beta 94 (FG1) Asp leads to His : a new hemoglobin Variant with increased oxygen affinity. *Pubmed*, 23(1981;23(5):267-73.), 12–22. Retrieved from [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/valores\\_de\\_laboratorio.pdf%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7329803](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/valores_de_laboratorio.pdf%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7329803)
- Arora, T., & Taheri, S. (2015). Associations among late chronotype, body mass index and dietary behaviors in young adolescents. *International Journal of Obesity*, 39(1), 39–44. <https://doi.org/10.1038/ijo.2014.157>
- Cárdenas-Villarreal, V. M., López-Alvarenga, J. C., Bastarrachea, R. A., Rizo-Baeza, M. M., & Cortés-Castell, E. (2010). Prevalencia del síndrome metabólico y sus componentes en adolescentes de la Ciudad de Monterrey, Nuevo León. *Archivos de Cardiología de Mexico*, 80(1), 19–26.
- Church, T. (2011). Exercise in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 53(6), 412–418. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2011.03.013>
- Després, J.-P., & Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 444(7121), 881–887. <https://doi.org/10.1038/nature05488>
- Edwardson, C. L., Gorely, T., Davies, M. J., Gray, L. J., Khunti, K., Wilmot, E. G., ... Biddle, S. J. H. (2012). Association of sedentary behaviour with metabolic syndrome: A meta-analysis. *PLoS ONE*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034916>
- Fernandez Travieso, J. C. (2016). Síndrome Metabólico y Riesgo Cardiovascular . *CENIC. Ciencias Biológicas*, 47, 106– 119.
- Freire WB., Ramírez-Luzuriaga MJ., Belmont P., Mendieta MJ., Silva-Jaramillo MK., Romero N., Sáenz K., Piñeiros P., Gómez LF., M. R. (2014). T. I. E. N. de S. y N. de la población ecuatoriana de cero a 59 años. E.-E. 2012. M. de S. P. N. de E. y C. Q.-E. (2014). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT-2012). Primera edición.*
- Greer, A. E., Sui, X., Maslow, A. L., Greer, B. K., & Blair, S. N. (2015). The effects of sedentary behavior on metabolic syndrome independent of physical activity and cardiorespiratory fitness. *Journal of Physical Activity & Health*. <https://doi.org/10.1123/jpah.2013-0186>
- Haraszti, R. Á., Purebl, G., Salavecz, G., Poole, L., Dokray, S., & Steptoe, A. (2014). Morningness-eveningness interferes with perceived health, physical activity, diet and stress levels in working women: A cross-sectional study. *Chronobiology International*, 31(7), 829–837. <https://doi.org/10.3109/07420528.2014.911188>
- IPAQ Group. (2002). ( Noviembre del 2002 ) FORMATO TELEFÓNICO LARGO – ÚLTIMOS 7 DIAS, (October 2002).

# Análisis biofísico y de la calidad de inclusión en planes urbanos, de servicios ecosistémicos urbanos relacionados con la cobertura vegetal y el control de escorrentía, dentro de la microcuenca Colinas de Santa Cruz en el municipio de Querétaro

*Gómez-Sandoval, J.*

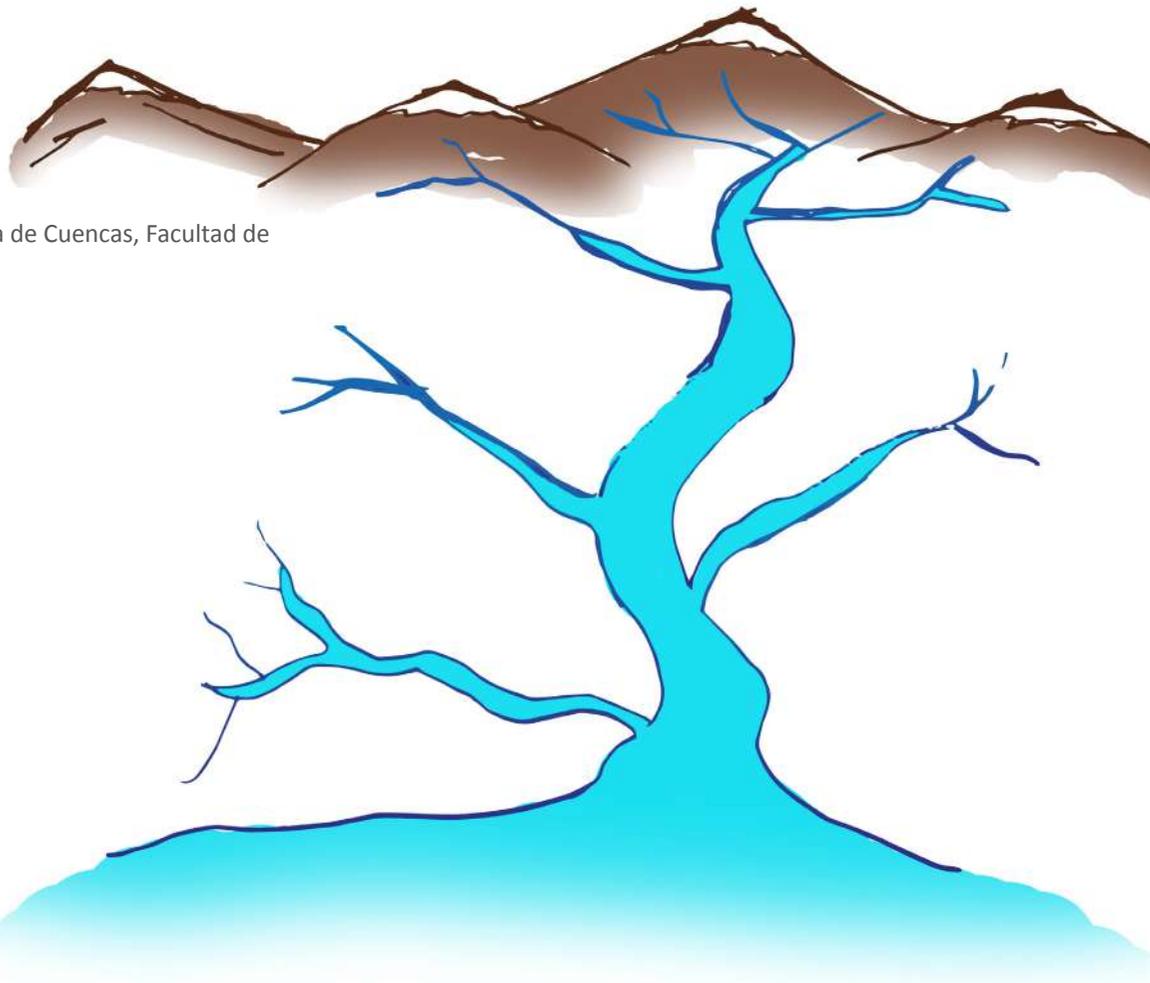
*Dorantes-Castro, J.C.*

*Pineda-López, R.*

*Hernández-Guerrero, J.A.*

*Luna-Soria, H.*

Maestría en Gestión Integrada de Cuencas, Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

Hoy en día las áreas urbanas enfrentan desafíos ambientales, por lo que es necesario mejorar su sostenibilidad, resiliencia y habitabilidad (MEA, 2005). A causa de una inapropiada modificación del espacio se da paso a la urbanización. Lo que ocasiona diferentes formas de apropiación que continúan alterando y afectando la provisión de servicios ecosistémicos de calidad y cantidad en las cuencas hidrográficas (FAO, 2007). El concepto moderno de servicios ecosistémicos, comenzó su uso a raíz del registro de los efectos negativos sobre el ambiente, resultantes de la contaminación, deforestación, cambio climático y reducción de la capa de ozono, en la década de 1960 y 1970 (Valencia, 2019). De acuerdo a la Agencia Ambiental Europea (European Environment Agency, 2019), quien lidera la denominada “Clasificación común Internacional de Servicios Ecosistémicos” (CICES), existen tres tipos de SE: 1) provisión, 2) regulación y manutención, 3) culturales, y 75 servicios específicos (Palma, 2019). La naturaleza está siendo redescubierta de varias formas al interior de la ciudad (Jefferson *et al.*, 2017). Dentro de ellas podemos encontrar los llamados servicios ecosistémicos urbanos (SEU) (Pickett *et al.*, 2001). Los cuales pueden encontrarse en lotes baldíos, parques, cementerios, patios y jardines, parcelas urbanas, bosques nativos, praderas, cañadas, humedales, ríos, lagos y estanques (EEA, 2011). Su importancia radica en la prestación de servicios de impacto directo como el control de escorrentía, el control de temperatura o el control de calidad del aire, entre otros (Bolud y Hunhammar, 1999). La ur-

banización es cada vez más reconocida como un agente perturbador que modifica, pero no excluye su entorno físico y natural (Platt, 2006). La modificación en la cabecera de la cuenca es un cambio recurrente en ecosistemas urbanos. Explicado esto, podemos observar que las elevaciones sobre el terreno de un área urbana producen que los límites de las cuencas urbanas no se comparen con las de una cuenca natural, ya que tienen una pendiente y nivelación diferentes (Parece y Campbell, 2015).

Una de las problemáticas derivadas de lo descrito anteriormente, es el cambio en el uso de suelo, que tiene un considerable efecto en la escorrentía superficial de una cuenca; esto por el aumento de superficies selladas como techos, entradas de automóviles, estacionamientos y carreteras (Korgaonkar *et al.*, 2018). Por ejemplo, en una cuenca altamente urbanizada la infiltración es del 0% al 10% y la escorrentía aumenta hasta el 90% o 100% (Trapote, 2016). De igual manera, se incrementa la temperatura y las islas de calor, efecto del cambio climático observado en varias regiones del mundo, sobre todo en ciudades (Koomen y Diogo, 2015).

Podemos entonces definir que las cuencas forman un complejo mosaico de ecosistemas, naturales y manejados (Cotler, 2010). Al modificar los ecosistemas dentro de una cuenca, éstos se degradan y cambian su capacidad para proveer servicios (Smith, de Groot, Perrot-Maître, & Bergkamp, 2006). Según el World Bank (2012) en los siguientes 30 años aumentará la vulnerabilidad y disminuirá la calidad de vida de la población urbana, por riesgo ante los cambios asociados al cambio climático

como aumento de escorrentía, temperatura y contaminación de aire. Por lo que el uso del concepto de SEU en la gestión de la ciudad, puede desempeñar un papel fundamental en su reconexión a la biosfera, y en la reducción de la huella y deuda ecológica de las ciudades, al tiempo que mejora la resiliencia, la salud y bienestar de sus habitantes (Gómez *et al*, 2013).

Actualmente las ciudades asumen un constante crecimiento urbano, incrementando el suelo sellado, lo que ha traído problemáticas ambientales como contaminación de agua, pérdida de vegetación, aumento de escorrentía y temperatura, entre otros. Es necesario entender los beneficios que los servicios ecosistémicos aportan a la población, por ello se propone analizar su abordaje en los planes de manejo urbano. De modo que se analizaron los instrumentos de política pública para conocer la calidad y amplitud de inclusión de los SEU del municipio de Querétaro y en la microcuenca Colinas de Santa Cruz. Al conservar y aumentar los SEU, se consiguen beneficios como control de escurrimiento, de temperatura, hábitat para especies, corredores ecológicos y bienestar psicológico en la población. Es por ello que se seleccionó para esta investigación, y así implementar marcos de referencia orientados a las cuencas urbanas.

## Metodología

La metodología se basa en un método cualitativo-cuantitativo, es decir una metodología mixta, aplicada para crear un diagnóstico so-

cio-ambiental, de los servicios ecosistémicos urbanos de cobertura vegetal y regulación de escorrentía. Bajo un enfoque de cuenca basado en lo holístico, entendiendo los fenómenos ambientales y humanos desde el punto de vista de los actores sociales. Las etapas a seguir son dos, 1) conocer aspectos biofísicos del control de escorrentía y cobertura vegetal, y 2) Abordaje de servicios ecosistémicos en los planes urbanos del municipio de Querétaro.

La exploración biofísica se basa en métodos cuantitativos que permitieron conocer la oferta de los servicios ecosistémicos urbanos relacionados con la cobertura vegetal y el control de escorrentía. Primero se calculó la Morfometría para conocer los datos de forma, relieve y drenaje, se usó el manual elaborado por Álvarez (2017). Como segundo paso se creó el Uso y tipo de suelo, digitalizando los mapas de geología propuestos por Xu *et al.* (2011) y el mapa base de geomorfología propuesto por Álvarez *et al* (2017). Lo tercero fue generar un Índice de Vegetación de Diferencia Normalizada (NDVI) para conocer la oferta de la cobertura vegetal. Lo cuarto fue crear las Zonas funcionales las cuales permiten identificar y clasificar el espacio mediante la pendiente, orografía y curvas de nivel. Se aplicó el método propuesto por Hernández y Valdés (2018). En cuanto a los Aspectos climáticos, se generaron los Polígonos de Thiessen para conocer el área de influencia que tienen las diferentes estaciones climatológicas, con el método propuesto por Bateman (2007). Para el Análisis de estaciones meteorológicas se usó la información del Servicio Meteorológico Nacional, se generaron las

PMA y TMA. En cuanto al balance hídrico se usó el método de Chow (1994) Para calcular la evapotranspiración.

Para la búsqueda cualitativa, se debe tener en cuenta que la metodología cualitativa y cuantitativa no son incompatibles, sino que son complementarias. La investigación cualitativa se basa en proporcionar técnicas para comprender las acciones humanas. En otras palabras, es un estudio sistemático de la experiencia cotidiana. El enfoque que se uso fue el de Investigación-Acción que se basa en la indagación y tiene semejanza con la investigación participante. Se caracteriza por centrarse en los problemas encontrados, dentro de una comunidad, pretende aclarar la problemática y resolverla. La búsqueda cualitativa de esta investigación se basa en el método propuesto por Geneletti et al (2020) donde se realizó un análisis de contenido cualitativo compuesto, a través del abordaje de los servicios ecosistémicos urbanos en los planes urbanos del municipio de Querétaro. Después se determinó su amplitud y calidad de inclusión con fórmulas propuestas por Baker et al (2012), Tang et al (2010) y Wilkinson et al. (2013).

## Resultados y Discusión

En cuanto al análisis biofísico se generó la información sobre aspectos biofísicos, como la superficie de la microcuenca, el coeficiente de Gravelius, El relieve. Los indicadores de drenaje, longitud del cauce principal, relación de bifurcación, densidad de drenaje. También se

creó un NDVI (figura 1) donde valores entre -1,0 y 1,0 los cuales representan el follaje de la vegetación, los valores negativos corresponden al agua o nubes, los valores cercanos a 0 corresponden a rocas y suelo desnudo, los valores por debajo de 0,1 representan rocas o arena, los valores de 0,2 a 0,3 representan arbustos o pastizal, mientras que los valores mayores a 0,6 corresponden a zonas muy húmedas. En cuanto a las zonas funcionales (figura 1) podemos observar que la parte alta se encuentra entre las cotas 1895-1967 msnm, la zona media de 1833-1894 msnm y la zona baja de 1806-1832 msnm. La zona baja se ubica sobre gran parte de la zona industrial, se asienta sobre depósitos lacustres y pluviales que va de los 6 a los 10 metros de profundidad. En cuanto a los aspectos climáticos, se crearon los Polígonos de Thiesen donde se demuestra que solo 2

estaciones tienen influencia en la MCSC (Juriquilla y Carrillo). El balance hídrico arrojó datos sobre el coeficiente de escurrimiento y escurrimiento superficial.

En cuanto a la búsqueda cualitativa se analizó el contenido de los planes de desarrollo urbano como el Programa de Ordenamiento Ecológico Local, los Planes Parciales de Desarrollo de las delegaciones (Centro histórico, Epigmenio González, Carrillo Puerto y Félix Osóres), Plan Maestro Pluvial 2008-2025, Plan Municipal de Desarrollo, y el Reglamento de Protección Ambiental y Cambio Climático del Municipio de Querétaro; siguiendo el procedimiento propuesto por Geneletti et al. (2020). Se realizó un análisis de contenido cualitativo compuesto. Se seleccionaron los servicios ecosistémicos urba-

nos de regulación de escorrentía, recarga de acuífero, regulación de temperatura, hábitat/corredores biológicos, tratamiento de desechos, moderación de eventos ambientales y recreación. Después se determinó la amplitud de inclusión (figura 2), conociendo la frecuencia de mención de SEU dentro de los planes. Segui-

do se calculó la inclusión de SEU dentro de los componentes de cada plan (información base, objetivos-metas y acciones) (figura 2), se determinaron otros factores como la profundidad de inclusión y el número de acciones por servicios ecosistémico urbano.

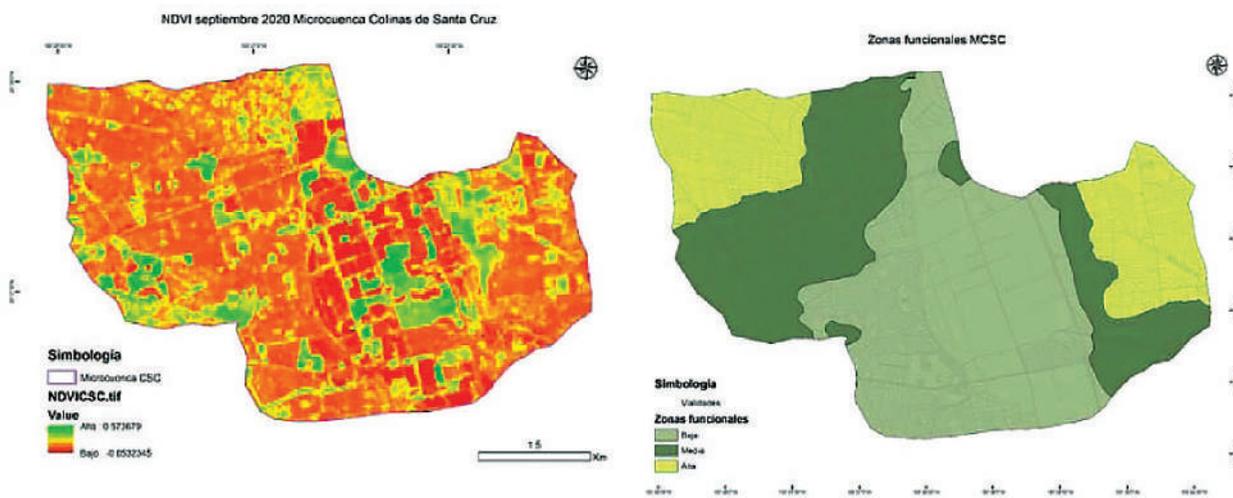


Figura 5. Índice de vegetación de diferencia normalizada. Elaborado con información de Earth Explorer (2021). Y Zonas funcionales. Elaboración propia con información de Valdés y Hernández (2017)

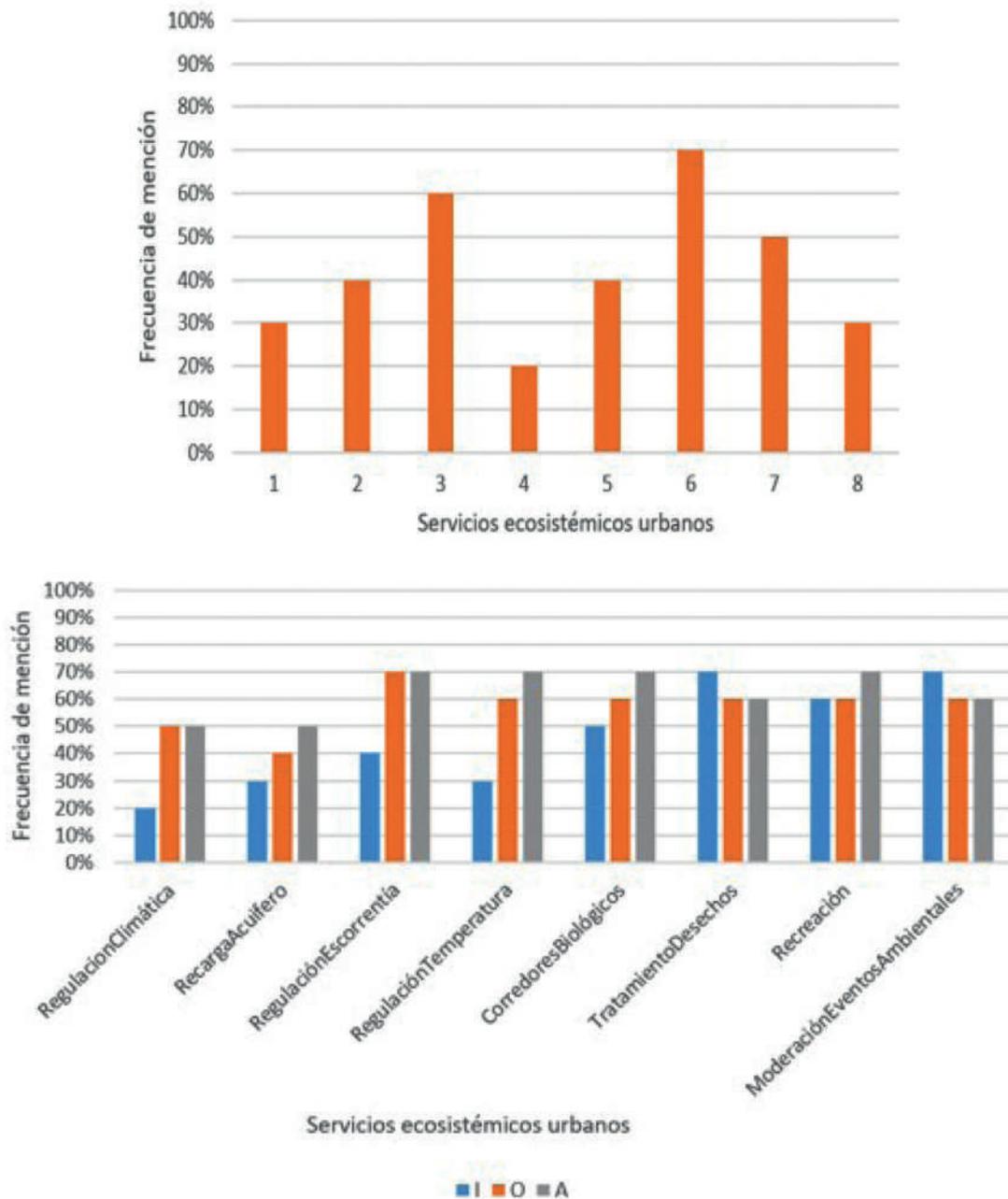


Figura 6. Indicador de puntaje de amplitud de inclusión de al menos un SEU en los componentes del plan. E Indicador de puntaje de amplitud que mide la inclusión de SEU en los tres componentes del plan (I) Información base, (O) objetivos y metas y (A) acciones.

# Conclusiones

Las microcuencas nos aportan diversos recursos y servicios que muchas ocasiones no son considerados, sobre todo, por la población urbana, es por ello que se hace un mal uso del espacio, sellándolo y alterando sus funciones. Los SEU que presenta la microcuenca Colinas de Santa Cruz, como la cobertura vegetal, muestra un índice de vegetación normalizada con un porcentaje medio a bajo, la vegetación existente no tiene la suficiente capacidad de afrontar cambios, o bien no se encuentra 100% consolidada, por lo que existe una alta probabilidad de alteración sobre sus funciones. Por su parte la escorrentía presenta valores altos ya que el uso del suelo no permite una infiltración eficaz, y la microcuenca es propensa a la aparición de avenidas pluviales y afectaciones por acumulación de agua en la parte baja, sobre todo en la salida del cauce principal. Es necesario conocer la perspectiva humana de los efectos que el cambio de uso de suelo y climático están ocasionando sobre la población. Ya que es notable la baja capacidad de servicios ecosistémicos que tiene la microcuenca para afrontar problemáticas relacionadas a estos acontecimientos.

## Literatura citada

- Álvarez Manilla Aceves, Alfonso, Carreón Freyre, Dora, Mendoza, Carlos, Zúñiga Dávila Madrid, F. Ramón, & Zhao, D. (2017). Contribución de las frecuencias características al periodo de vibración dominante en la Ciudad de Querétaro, México. *Ingeniería sísmica*, (97), 84-101. <https://dx.doi.org/10.18867/ris.97.482>.
- Bateman, A. (2007). *Hidrología básica y aplicada*. Grupo de Investigación en Transporte de Sedimentos. Bolund, P., & Hunhammar, S. (1999). Ecosystem services in urban areas. *Ecological economics*, 29(2), 293-301. Chow, V. (1994). *Hidrología aplicada*. Colombia: McGraw-Hill.
- Cotler, H. (2010). *Las cuencas hidrográficas de México. Diagnóstico y priorización*. Pluralia Ediciones e Impresiones SA de CV, México.
- EEA (European Environmental Agency), 2011. Green infrastructure and territorial cohesion. The concept of green infrastructure and its integration into policies using monitoring systems. EEA Technical report, 18. European Environment Agency.
- European Environment Agency (2019). Common International Classification of Ecosystem Services (CICES): Consultation on Version 5.1 Recuperado de <https://cices.eu/>
- FAO. (2004). El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación.
- Gómez-Baggethun, Erik & Gren, Åsa & Barton, David & Langemeyer, Johannes & McPhearson, Timon & O'Farrell, Patrick & Andersson, Erik & Hamstead, Zoe & Kremer, Peleg. (2013). *Urban Ecosystem Services*. 10.1007/978-94-007-7088-1\_11.
- Jefferson, A. J., Bhaskar, A. S., Hopkins, K. G., Fanelli, R., Avellaneda, P. M., & McMillan, S. K. (2017). Stormwater management network effectiveness and implications for urban watershed function: A critical

- review. *Hydrological Processes*, 31(23), 4056-4080
- Koomen E, Diogo V (2015) Assessing potential future urban heat island patterns following climate scenarios, socio- economic developments and spatial planning strategies. *Mitig Adapt Strateg Glob Chang*. <https://doi.org/10.1007/s11027-015-9646-z>
- Korgaonkar, Y., Guertin, D. P., Goodrich, D. C., Unkrich, C., Kepner, W. G., & Burns, I. S. (2018). Modeling urban hydrology and green infrastructure using the AGWA urban tool and the KINEROS2 model. *Frontiers in built environment*, 4, 58.
- MEA, World Resources Institute. *Ecosistemas y Bienestar humano: Marco para la Evaluación*. (2003). Internet <http://www.millenniumassessment.org/en/index.aspx> (Consultado mayo de 2020).
- Palma Hernández, D., de la Barrera, F., y Pineda López, R. (2019). Evaluación de los servicios ecosistémicos provistos por una microcuenca periurbana de Querétaro (México). *Investigaciones Geográficas*, 57, 63-74. <https://doi.org/10.5354/0719-5370.2019.53581>
- Parece, T. E., & Campbell, J. B. (2015). Identifying Urban Watershed Boundaries and Area, Fairfax County, Virginia. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 81(5), 365-372.
- Pickett, S. T., Cadenasso, M. L., Grove, J. M., Nilon, C. H., Pouyat, R. V., Zipperer, W. C., & Costanza, R. (2001). Urbanecological systems: linking terrestrial ecological, physical, and socioeconomic components of metropolitan areas. *Annual review of ecology and systematics*, 32(1), 127-157
- Platt, R. H. (2006). Urban watershed management: Sustainability, one stream at a time. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 48(4), 26-42. DOI: 10.3200/ENVT.48.4.26-42
- Smith, M., de Groot, R. S., Bergkamp, G., & Perrot-Maître, D. (2006). Establishing payments for watershed services. *J. Eng. Technol.*, vol. 5, no. 2, (pp. 26–40).
- Trapote Jaume (2016). “Gestión de las aguas pluviales en entornos urbanos mediante técnicas de Drenaje Sostenible”
- Valdés-Carrera, A. C., & Hernández-Guerrero, J. A. (2018). Zonas funcionales y unidades de paisaje físico-geográfico en la microcuenca Potrero de la Palmita, Nayarit, México. *Revista Geográfica de América Central*, 1(60), 189-230.
- Valencia, A. G. (2019). Aproximación al concepto de Servicios Ecosistémicos y su evolución a través del tiempo. *Revista Ambiental ÉOLO*, 18(1).
- World Bank. 2012. *Integrated Urban Water Management*. A summary note. The World Bank, Washington DC, USA

# Comportamiento productivo y morfofisiología gastrointestinal en conejos alimentados con diferentes niveles de micro alga

*Helgueros-Avila S.*

*Gómez-Soto J. G.*

*Reis-de Souza T. C.*

*Escobar-García K.*

*Morales-Anguiano J. P.*

*Aranda-Vargas P. J.*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.

Facultad de Ciencias Naturales, UAQ.

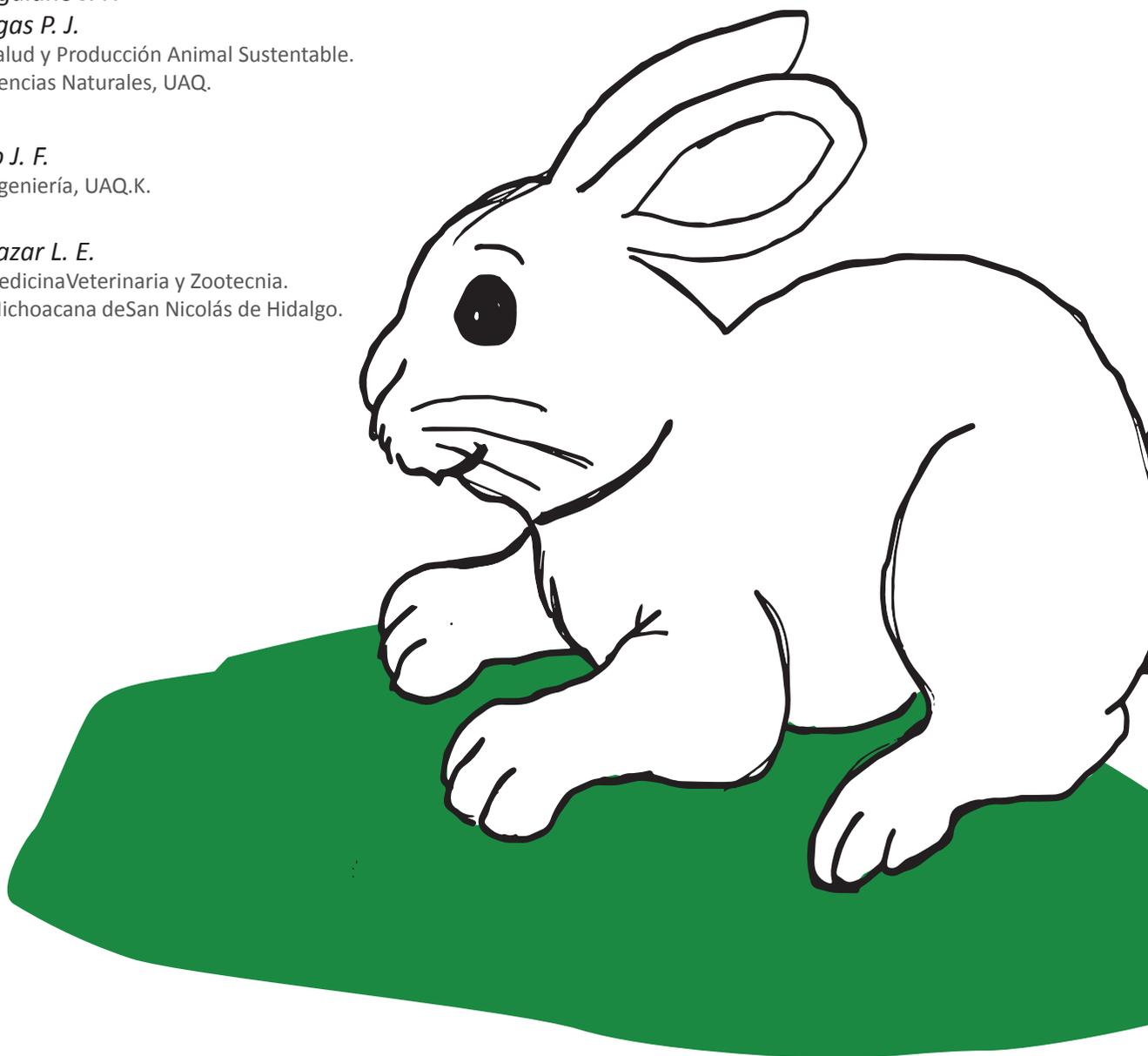
*García-Trejo J. F.*

Facultad de Ingeniería, UAQ.K.

*Escobar-Salazar L. E.*

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.



## Introducción

Se estima que en el año 2050 el número de personas incrementará considerablemente, lo que provocará un aumento en la demanda de alimentos proteicos a nivel global tanto para el consumo humano como los destinados al sector pecuario. En estos tiempos la seguridad alimentaria y el valor nutritivo de los alimentos destinados al humano han cobrado gran importancia y en este contexto la carne de conejo es muy valorada por sus propiedades nutricionales, así como su fácil y rápida producción (Consuegra, 2019). Por otro lado, la pasta de soya es el insumo más utilizado como fuente de proteína para la producción pecuaria en general, esta contribuye dos tercios de la producción mundial de los piensos proteicos (Oil World, 2015). Se han realizado estudios para encontrar fuentes alternativas proteicas, ya que el depender de pocas fuentes hace vulnerable al sector ganadero a distorsiones del comercio, disponibilidad y volatilidad de precios (Peralta, 2019). Debido a esto es importante investigar fuentes proteicas alternativas que no compitan de forma directa con la alimentación humana y sean sustentables. Una de las materias primas alternativas que se podrían emplear es la microalga *Scenedesmus* sp., estas poseen una tasa de crecimiento rápido y altos niveles de proteína por lo cual tienen una aplicación potencial en la industria de alimentos balanceados para animales.

## Metodología

### *Análisis químicos*

Los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la UAQ, se efectuaron en la materia prima (microalga, alfalfa, rastrojo de maíz, pasta de soya y maíz) requeridos para elaborar las dietas experimentales. Las técnicas se realizaron por triplicado y fueron: materia seca, proteína cruda (PC), cenizas, extracto etéreo, energía bruta, fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA). En el Laboratorio de Suelos y Nutrición Vegetal de la Fundación Produce Querétaro se le analizó a la microalga proteína verdadera, calcio (Ca), fósforo (P) y sodio (Na).

### *Dietas experimentales*

Se formularon tres dietas experimentales con los ingredientes analizados y cumpliendo las siguientes características: isoproteicas con un 16% de PC, isoenergéticas en energía digestible con 2.4 Mcal/kg y un nivel de FDA del 16%. Dos dietas contenían microalga *Scenedesmus* sp. en dos diferentes niveles 5 y 10%, y otra dieta control con 0%. Las dietas se elaboraron y peletizaron en el ARCUN UAQ.

### *Prueba de comportamiento productivo*

La unidad experimental se conformó por un gazapo en una jaula de engorda, se utilizaron 30 gazapos recién destetados (35 días de edad) que se distribuyeron de forma aleatoria en las

tres dietas experimentales, 10 por cada dieta. La engorda tuvo una duración de seis semanas. Diariamente se pesó el alimento ofrecido y semanalmente el alimento rechazado, para calcular el consumo diario de alimento (CDA) por semana, de igual forma los conejos se pesaron semanalmente para obtener el peso vivo (PV), con la diferencia entre los PV de las semanas se calculó la ganancia diaria de peso (GDP) por semana y por último la eficiencia alimentaria (EA) por semana.

### *Evaluación de órganos digestivos y canales*

Después de efectuar la matanza de acuerdo a las normas oficiales NOM-062-ZOO-1999 y NOM-033-SAG/ZOO-2014, se procedió a desollar y a realizar la evisceración verde. De los 30 conejos se seleccionaron 18 (seis por dieta) a los cuales se les diseccionó el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso para medir el pH de sus contenidos utilizando un potenciómetro, posteriormente se lavaron y se pesaron vacíos para determinar el peso. Por último, se tomaron muestras histológicas del duodeno, yeyuno y ciego para la evaluación morfológica en el microscopio de las vellosidades y criptas intestinales.

A continuación, se realizó la evisceración roja y se cortó la cabeza para obtener los canales calientes. Cada canal se lavó, secó y pesó para calcular el peso. Se procedió a medir el pH de los siguientes músculos *biceps brachii*, *longissimus dorsi* y *biceps femoris*, por último,

se guardó en refrigeración a 4 °C durante 24 h, pasado el tiempo de refrigeración a las canales frías se les evaluó las características anteriormente mencionadas (pH músculo en canal fría).

### *Análisis estadístico*

Los resultados se analizaron en el paquete estadístico SAS. Las variables obtenidas del comportamiento productivo se analizaron utilizando un diseño experimental completamente aleatorizado y un arreglo de medidas repetidas en el tiempo; mientras que las variables de las características de la canal y morfología gastrointestinal se analizaron con un diseño experimental completamente aleatorizado.

## Resultados y discusión

### *Composición química.*

De acuerdo a los resultados de los análisis químicos (Cuadro 1) la microalga con 40.31 % de PC pertenece al grupo 5: alimentos proteicos, de acuerdo a la NRC. El valor de PC obtenido se sobre estima por el método Kjeldahl que determina el nitrógeno total, aunque este no proviene de proteínas, en el caso de las microalgas se considera que de un 2 al 6% del nitrógeno es no proteico (Vidyashankar, 2014). La microalga *Scenedesmus* sp. de la presente investigación contiene un 29.94% de nitrógeno proveniente de proteínas.

Las diferencias entre la microalga y la pasta de soya son el contenido de minerales, la microalga contiene más, esto es por el Ca que se utiliza en su cultivo. También se puede observar que la microalga contiene un mayor nivel de FDN que la pasta de soya, lo que plantea un problema para su digestión en especies

monogástricas, sin embargo, se debe considerar que el conejo fermenta a nivel cecal y realiza también la cecotrofia lo cual podría ser una ventaja para el aprovechamiento de estas materias primas.

Cuadro 1. Comparación de la composición química entre microalga y pasta de soya

Análisis Principal	<i>Scenedesmus</i> sp.	Pasta de soya (FEDNA)
Humedad	5.75	12.00
Materia Seca	94.25	88.00
Proteína Cruda	40.31	44.00
Proteína Verdadera	29.94	-
FDN	17.04	12.80
FDA	6.39	7.20
Lignina	4.48	0.40
Extracto Etéreo	3.50	1.90
Cenizas	19.94	6.20
Energía (kcal/k)	4175.17	4705.20
Ca	4.97	0.29
P	1.85	0.64
Na	0.25	0.02

*Comportamiento productivo.*

Se inició con un peso al destete de  $680 \pm 107$  g, el promedio del PV alcanzado al finalizar la engorda fue de 2.0 kg. Los resultados del comportamiento productivo se presentan por semana y por dieta en el Cuadro 2. Los resultados semanales muestran un comportamiento típico de la engordade conejo, en donde el CDA y la GDP aumentan con el transcurso de las semanas, pero en las últimas, la GDP se mantiene y esto hace que EA vaya disminuyendo. En relación a las dietas no hay diferencia en el CDA

entre la dieta control (0%) con la dieta 5%, por otro lado, con la dieta 10% hay un aumento en el consumo, que el consumo no disminuya al incluir microalga indica que no afecta la palatabilidad, lo que difiere con Battaglini *et al.* (1979), que utilizaron 12% de microalga *Scenedesmus acutus* y mencionan que disminuye la ingesta total de alimento.

Pinzón y Rubio (2017) mencionan que el promedio de la GDP para conejos en engorda de seis semanas es de 34 g/d, datos similares a

los obtenidos por las diferentes dietas experimentales del presente trabajo. Flórez-Delgado y Díaz (2019) reportan valores cercanos a la EA obtenida (0.3), evaluaron dietas a base de forraje con un nivel de PC de 16.41%, teniendo como resultados valores de EA entre 0.2 y 0.4.

**Cuadro 2. Comportamiento productivo por semana y dieta experimental.**

Semana	CDA (g)	GDP (g)	EA	PV (kg)
1	58 <sup>e</sup>	19 <sup>d</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.8 <sup>f</sup>
2	85 <sup>d</sup>	38 <sup>b</sup>	0.4 <sup>a</sup>	1.0 <sup>e</sup>
3	116 <sup>c</sup>	40 <sup>ab</sup>	0.4 <sup>a</sup>	1.4 <sup>d</sup>
4	130 <sup>b</sup>	41 <sup>a</sup>	0.3 <sup>b</sup>	1.6 <sup>c</sup>
5	139 <sup>a</sup>	32 <sup>c</sup>	0.2 <sup>c</sup>	1.8 <sup>b</sup>
6	136 <sup>a</sup>	34 <sup>c</sup>	0.2 <sup>c</sup>	2.0 <sup>a</sup>
<b>Dieta</b>				
0%	110 <sup>b</sup>	34	0.3	2.0
5%	108 <sup>b</sup>	34	0.3	2.1
10%	114 <sup>a</sup>	34	0.3	2.1
<b>P</b>				
Semana	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Dieta	NS	NS	NS	NS
Semana* Dieta	NS	NS	NS	NS
<b>EEM</b>	0.8	0.5	0.01	23.8
abcdef				

La evaluación de canales se observa en el Cuadro 3. Los valores obtenidos de rendimiento de canal caliente y fría entre las dietas experimentales no presentaron diferencias estadísticas. Hernández y Palacios (2015) reportaron un rendimiento de canal en conejos Nueva Zelanda con un valor de 45.2%, ligeramente inferior a los obtenidos en este experimento (49.1 - 50.1%).

**Cuadro 3. Evaluación de peso, pH y rendimiento de canal caliente y fría.**

Variable	0%	5%	10%	P	EEM
<b>Canal caliente</b>					
Peso (kg)	1.0	1.0	1.0	NS	0.02
RC (%)	50.5	49.5	50.4	NS	0.38
pH BF	7.0	7.0	7.0	NS	0.04
pH BB	7.4	7.1	7.2	NS	0.10
pH LD	7.3	7.2	7.2	NS	0.02
<b>Canal fría</b>					
Peso (kg)	1.0	1.0	1.0	NS	0.02
RC (%)	50.1	49.1	49.8	NS	0.34
pH BF	6.0	6.0	6.0	NS	0.05
pH BB	6.1	6.1	6.2	NS	0.07
pH LD	5.9	5.9	5.9	NS	0.04
<i>Rendimiento de canal (RC), biceps femoris (BF), biceps brachii (BB), longissimus dorsi (LD). No Significante (NS), Error Estándar de la Media (EEM).</i>					

El pH de la canal es un indicador de calidad, los resultados obtenidos por el efecto de la dieta no muestran diferencia. El pH general de las canales es de 6.0 esto es superior a lo reportado por Ramos (2019) con un valor de 5.8, estas diferencias se pueden deber a dos factores que intervienen en el descenso del pH que son el glucógeno disponible y las condiciones *antemortem* (Gondret y Bonneau, 1998).

### *Morfofisiología gastro intestinal*

Los resultados obtenidos del análisis de la morfofisiología gastrointestinal se muestran en el Cuadro 4. Para el peso relativo de los órganos digestivos vacíos no hubo un efecto por la dieta consumida entre ninguno de los segmentos pesados. Los pH obtenidos de los contenidos gastrointestinales no fueron afectados por la dieta consumida en el estómago, en el segmento el yeyuno-íleon y el ciego; sin embargo, en el segmento colon-recto al incluir 10% de microalga *Scenedesmus* sp. el contenido fue más ácido que en las otras dos dietas entre las cuales no hubo diferencia. Los resultados son similares a los reportados por Ramos (2019) en estómago (1.4-1.6), yeyuno-íleon (7.3 -7.5, ciego (5.9 -6.5) y colon-recto (6.7).

**Cuadro 4. Morfofisiología gastrointestinal.**

Variable	0%	5%	10%	P	EEM
<b>Peso (g)</b>					
<b>Estómago</b>	1.2	1.1	1.1	NS	0.62
<b>ID</b>	2.3	2.1	2.3	NS	0.07
<b>IG</b>	3.6	3.7	2.8	NS	0.14
<b>pH contenido</b>					
<b>Estómago</b>	1.3	1.39	1.4	NS	0.12
<b>Ciego</b>	5.7	5.8	5.7	NS	0.04
<b>Yey - Íle</b>	6.8	6.9	7.0	NS	0.05
<b>Col - Rec</b>	6.2 <sup>a</sup>	6.2 <sup>a</sup>	6.0 <sup>b</sup>	<0.05	0.06

*Intestino delgado (ID), intestino grueso (IG), Yeyuno – Íleon (Yey - Íle), Colon – Recto (Col-Rec). abcMedias con diferente letra de la misma fila son estadísticamente*

Los resultados obtenidos de la morfometría de las vellosidades y criptas intestinales se muestran en el Cuadro 5. La altura y el ancho de vellosidades en duodeno y yeyuno no muestran diferencias por el tipo de dieta, teniendo valores entre 759 a 799  $\mu\text{m}$  y 728 a 773  $\mu\text{m}$  respectivamente, por otro lado, se tienen las siguientes medidas de criptas del duodeno de 98 a 105  $\mu\text{m}$ , yeyuno de 102 a 115  $\mu\text{m}$  y ciego de 134 a 154, las profundidades disminuyen en los tres

segmentos evaluados al incrementar la inclusión de la microalga *Scenedesmus* sp. Aunque las criptas disminuyen estas se encuentran entre los valores normales al igual que la altura de las vellosidades según lo reportado por Chiou *et al.* (1994), altura de vellosidades: duodeno entre 744 a 936  $\mu\text{m}$ , yeyuno entre 574 a 766  $\mu\text{m}$ ; profundidad de criptas: duodeno entre 110 a 143  $\mu\text{m}$ , yeyuno entre 88 a 126  $\mu\text{m}$  y ciego entre 56 y 248  $\mu\text{m}$ .

<b>Cuadro 5. Morfometría de vellosidades y criptas intestinales.</b>					
<b>Variable (µm)</b>	<b>0%</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>	<b>P</b>	<b>EEM</b>
<b>Duodeno</b>					
<b>Vellosidad</b>					
<b>Altura</b>	791	759	799	NS	8.3
<b>Ancho</b>	105	113	98	NS	2.0
<b>Cripta</b>					
<b>Profundidad</b>	158 <sup>a</sup>	138 <sup>b</sup>	100 <sup>c</sup>	<0.05	1.8
<b>Yeyuno</b>					
<b>Vellosidad</b>					
<b>Altura</b>	773	728	752	NS	14.2
<b>ancho</b>	104	106	108	NS	2.0
<b>Cripta</b>					
<b>Profundidad</b>	115 <sup>a</sup>	105 <sup>b</sup>	102 <sup>b</sup>	<0.05	2.0
<b>Ciego</b>					
<b>Cripta</b>					
<b>Profundidad</b>	154 <sup>a</sup>	141 <sup>b</sup>	134 <sup>b</sup>	<0.05	2.4
<i>abc</i> Medias con diferente letra de la misma fila son estadísticamente diferentes. No significativo (NS). Error estándar de la media (EEM).					

## Conclusiones

La microalga *Scenedesmus* sp. tiene una composición química alta en proteína. En las condiciones experimentales la inclusión de la microalga *Scenedesmus* sp. al 5 y 10% en dietas para conejos en engorda no tuvo ninguna diferencia en las variables GDP, CA y EA con respecto a la dieta control (0%), sin embargo, al 10% aumenta ligeramente el CDA. El peso vivo y las características de la canal (peso, rendimiento y pH) tampoco se vieron afectados por la inclusión de microalga. No hay alteraciones negativas en los pesos y pH de los contenidos en estómago, intestino delgado e intestino grueso, ni en la al-

tura de las vellosidades del duodeno y yeyuno, por otro lado, las profundidades en las criptas del duodeno, yeyuno y ciego disminuyen al incrementar el porcentaje de la microalga, sin embargo, esto no es un efecto negativo para el comportamiento productivo y el producto final que es la canal. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede incluir hasta un 10% de microalga *Scenedesmus* sp., como ingrediente alternativo proteico y reducir la cantidad de pasta de soya utilizada durante la etapa de engorda en conejos. Se recomienda seguir investigando las microalgas con la finalidad de que sirvan para la alimentación de conejos y otras especies pecuarias.

# Literatura citada

- Battaglini, M. ; Grandi, A. ; Paletti, C. ; Pushparaj, B., (1979). Use of biomass of *Scenedesmus acutus* 8 M as an alternative protein concentrate in diets for growing rabbits. *Zoot. Nutr. Anim.*, 5: 211–218
- Chiou, P. W., Bi, Y., & Chang, L. (1994). Effect of different components of dietary fiber on the intestinal morphology of domestic rabbits. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 108(4), 629-638.
- Consuegra Villabona, D. A. (2019). Implementación de una producción integral de conejos en Finca La Turena, Municipio de Floridablanca, Santander (tesis pregrado). Universidad Cooperativa de Colombia Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Bucaramanga.
- FlórezDelgado, D. F., & Diaz, A. I. A. (2019). Evaluación de un alimento peletizado a base de forraje para conejos en fase de levante y ceba en la Granja Experimental Villa Marina. *Mundo Fesc*, 9(17), 69-75.
- Gondret, F., & Bonneau, M. (1998). Mise en place des caractéristiques du muscle chez le lapin et incidence sur la qualité de la viande. *Productions animales*, 11(5), 335-347.
- Hernández, J., Aquino, J., & Palacios, A. (2015). Rendimiento de la canal, color de la carne y evolución del pH muscular de conejos. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca.
- Oil World. (2015). *Oil World Annual 2015*. ISTA Mielke GmbH, Hamburg.
- Peralta Guamán, M. A. (2019). Producción, comercialización y exportación de soya y sus derivados en el Ecuador 2014-2016. (tesis pregrado). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Económicas.
- Pinzón Pinzón, L., & Rubio Sánchez, C. (2017). Consumo residual en conejos: con variables productivas de crecimiento. (tesis pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas. UDCA. Bogotá, Colombia.
- Ramos, E. (2019). Evaluación del comportamiento productivo y de la presencia de kafilinas en cecotrofos y heces duras en conejos en engorda alimentados con sorgo y diferentes niveles de fibra detergente neutro. (tesis pregrado). Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Vidyashankar, S., VenuGopal, K. S., Chauhan, V. S., Muthukumar, S. P., & Sarada, R. (2014). Characterisation of defatted *Scenedesmus dimorphus* algal biomass as animal feed. *Journal of Applied Phycology*, 27(5), 1871- 1879.

# Concentrado de proteína de papa en la dieta de lechones y sus efectos sobre algunos indicadores de la salud intestinal

**Hijuitl Valeriano, T.J.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Reis de Souza, T.C.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Mariscal Landín, G.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación en Fisiología Animal – INIFAP

**Escobar García, K.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**BautistaMarín, S.E.**

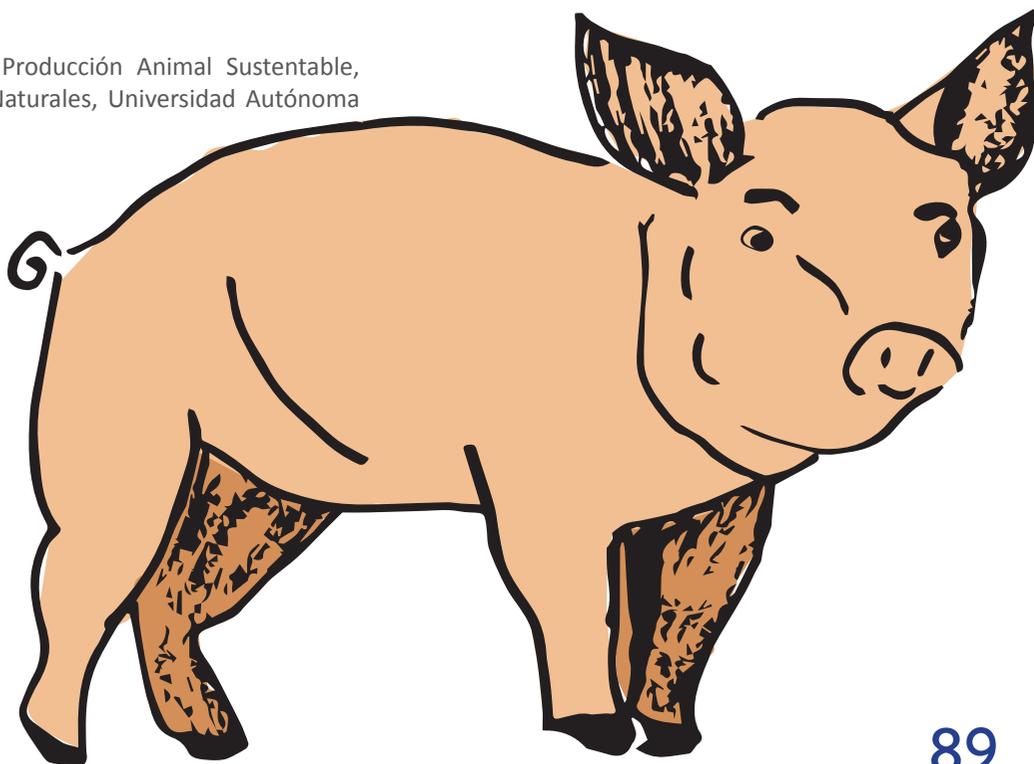
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Gómez Soto, J.G.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Aguilera Barreyro, A.**

<sup>1</sup>Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.



# Introducción

El destete es considerado como el periodo más difícil en la vida de un lechón (Vallejos *et al.*, 2014), ya que existen múltiples factores estresantes que lo caracterizan como una etapa de inestabilidad gastrointestinal e inmunológica que significa mayor susceptibilidad a una infección (Mizumachi *et al.*, 2009).

Durante los primeros cuatro días posdestete hay cambios en la morfología intestinal que se relacionan con la baja ingesta de alimento como son reducción en la altura de las vellosidades y aumento en la profundidad de las criptas, lo cual conduce a una superficie reducida para la absorción de nutrientes y la función de la barrera intestinal queda comprometida (Ma *et al.*, 2019). El efecto combinado de estos cambios durante este lapso se traduce en el lechón como pobre crecimiento inicial o pérdida de peso y en diarrea que, según la gravedad, puede causar la muerte (Insuasti *et al.*, 2008). Comúnmente, el riesgo de los trastornos entéricos en cerdos recién destetados se ha mitigado mediante la adición a las dietas de antibióticos promotores del crecimiento (APC); sin embargo, su uso se ha restringido como parte del reconocimiento al problema de los patógenos resistentes a los antimicrobianos.

Para compensar la posible disminución en la producción durante esta etapa, se ha cambiado el enfoque para encontrar estrategias alternativas, no farmacéuticas, que sirvan en la prevención y el control de diarreas posdestete (Wellock *et al.*, 2008), así como mejorar el rendimiento del animal. Como parte de estas

alternativas, se investiga el uso del concentrado de proteína de papa, ya que sus características nutricionales permiten que pueda utilizarse en dietas preiniciadoras pues se considera como una proteína de alta calidad; además se ha reportado la presencia de péptidos antimicrobianos que pueden auxiliar en la reducción de bacterias potencialmente patógenas en el tracto gastrointestinal (TGI).

Debido a que el concentrado de proteína de papa añadido al alimento ha resultado favorable sobre el desempeño productivo, morfología intestinal y digestibilidad de la dieta en lechones recién destetados (de Souza *et al.*, 2019), se realizó el presente trabajo para establecer el nivel de inclusión más adecuado para mantener un efecto benéfico.

## Metodología

La fase experimental se llevó a cabo en las instalaciones de la unidad experimental porcina del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID) en Fisiología y Mejoramiento Animal perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Los análisis de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal – FCN - UAQ y en el Laboratorio de Bromatología del INIFAP.

Se utilizaron 165 lechones ((Large white x Landrace) x PIC337) destetados a los  $23 \pm 2$  días de edad con un peso de  $6.85 \pm 0.93$  kg. Se consideró el peso inicial como factor de agrupación para formar corrales de 5 animales cada uno y

se asignaron 11 corrales a cada dieta experimental.

Se evaluaron tres dietas experimentales: Control: dieta sin antibiótico; CPP6: Control + 6% de CPP y CPP8: Control + 8% de CPP. Las dietas se formularon tomando en cuenta los requerimientos nutricionales descritos en el NRC (2012); cada una de las dietas fue adicionada con 0.3% de dióxido de titanio como marcador de digestibilidad.

Los lechones se pesaron el día 1, 7 y 15 del experimento. Diariamente se registró la cantidad de alimento ofrecido; semanalmente se pesaron los comederos para obtener el rechazo y posteriormente se calculó el consumo diario de alimento (CDA), la ganancia diaria de peso (GDP) y la eficiencia alimenticia (CA) por corraleta. Adicionalmente se llevó a cabo la evaluación de la incidencia y severidad de la diarrea por corral. La incidencia de diarrea (ID) se midió como el número de días en que se observó diarrea dentro de un corral. La severidad de la diarrea (SD) consistió en otorgar una puntuación visual diaria en una escala basada en la consistencia fecal de 0 (sin diarrea) a 3 (diarrea severa) (de Souza *et al.* (2019).

Tres días previos al final de la prueba se realizó colecta directa de heces por corraleta, las cuales se depositaron en bolsas de plástico previamente identificadas que se congelaron hasta el momento de su procesamiento, se liofilizaron y se analizó la concentración de titanio (Myers *et al.*, 2004), materia seca (MS), proteína cruda (PC) (AOAC, 2002) y energía (En) (Bateman, 1970) para la determinación de

la digestibilidad aparente total de estos nutrientes. En las dietas se realizaron las mismas determinaciones.

El día 15 posdestete se seleccionaron aleatoriamente seis lechones de cada tratamiento para ser eutanaziados. Se tranquilizaron con azaperona (Sural®) (20mg/kg) y posteriormente se administró una sobredosis de pentobarbital sódico (50mg/kg). Se obtuvo el contenido del íleon, se almacenó en bolsas de plástico identificadas que se congelaron hasta proceder con el análisis de la determinación de titanio, MS y PC, utilizando las mismas técnicas descritas anteriormente, para determinar la digestibilidad ileal aparente de estos nutrientes. Para evaluar la morfología de las vellosidades intestinales, se obtuvieron muestras del duodeno, yeyuno, íleon y colon de aproximadamente cinco cm de largo, las cuales se lavaron con solución salina y se conservaron en formol neutralizado al 10%. Posteriormente se procesaron mediante la técnica de inclusión con parafina para hacer cortes de cinco micras de espesor y poder teñirlas con hematoxilina-eosina.

Se realizó un análisis de varianza según un diseño de bloques completamente al azar, utilizando el peso de los lechones al destete como factor de bloqueo. Todos los datos se analizaron por medio del paquete estadístico SAS (2008). Las medias se compararon por la prueba de Duncan y las diferencias estadísticas se consideraron significativas con  $P < 0.05$ .

# Resultados y Discusión

## Comportamiento productivo

Durante la primera semana posdestete los lechones alimentados con la dieta CPP6 obtuvieron mejores parámetros ( $P < 0.05$ ) que los lechones de la dieta control (Cuadro 1). En la segunda semana posdestete los parámetros productivos no variaron ( $P > 0.05$ ) entre los animales alimentados con las tres dietas experimentales. Al considerar todo el periodo experimental, el CDA fue superior ( $P < 0.05$ ) para los animales de la dieta CPP6 solo cuando se

comparó con el CDA de los lechones de la dieta control.

En la primera semana, donde la ingesta de alimento fue baja, se aprecia que los lechones ganaron poco peso o incluso algunos tuvieron pérdida, pero se considera un comportamiento normal en esta etapa (Padersen & Lindberg, 2004). La adición de proteína de papa a un nivel superior al 6% puede tener como consecuencia la reducción en la ingesta de alimento y el rendimiento del crecimiento de los cerdos (Solà *et al.*, 2011) indicando una disminución en la preferencia por la dieta a medida que aumenta la tasa de inclusión.

**Cuadro 1. Efecto del nivel de inclusión de CPP sobre el comportamiento productivo.**

Semana	Pos-destete	Dietas Experimentales			P	EEM
		Control	CPP6	CPP8		
Semana 1	GDP (g/d)	27 <sup>b</sup>	56 <sup>a</sup>	49 <sup>ab</sup>	0.024	4.45
	CDA (g/d)	125 <sup>b</sup>	148 <sup>a</sup>	139 <sup>ab</sup>	0.019	3.38
	EA	0.213 <sup>b</sup>	0.382 <sup>a</sup>	0.340 <sup>ab</sup>	0.044	0.29
Semana 2	GDP (g/d)	101	115	112	0.614	6.37
	CDA (g/d)	176	207	195	0.076	5.73
	EA	0.570	0.582	0.580	0.996	0.37
Total	GDP (g/d)	64	85	80	0.063	4.47
	CDA (g/d)	151 <sup>b</sup>	178 <sup>a</sup>	167 <sup>ab</sup>	0.020	3.97
	EA	0.394	0.481	0.461	0.295	0.03

<sup>ab</sup>Dentro de la misma fila, medias con distintas letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ). EEM: error estándar de la media.

## Diarreas Posdestete

La incidencia de diarrea no fue diferente ( $P>0.05$ ) entre los animales de las tres dietas experimentales en ninguna de las dos semanas posdestete, ni durante todo el periodo experimental (Cuadro 2). En lo que corresponde a la severidad de la diarrea, sólo se observó diferencia ( $P<0.05$ ) entre los animales de la dieta control y los de CPP6, siendo estos últimos los

que presentaron diarreas con el menor índice de severidad. Estos resultados coinciden con el trabajo de Liu *et al.* (2008) los cuales reportan que la diarrea ocurre principalmente durante la segunda semana del experimento (días 8 a 14 posdestete) en lechones alimentados con una dieta control (sin antibiótico) en comparación con una dieta adicionada con algún alimento funcional.

**Cuadro 2. Efecto del nivel de inclusión de CPP sobre la incidencia (ID) y severidad (ISD) de diarrea.**

Semana Pos-destete		Dietas Experimentales			P	EEM
		Control	CPP6	CPP8		
Semana 1	ID	5.09	5.45	5.31	0.136	0.08
	ISD	1.52	1.52	1.53	0.995	0.03
Semana 2	ID	6.99	7.00	6.99	0.621	0.004
	ISD	1.82 <sup>b</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.73 <sup>ab</sup>	0.018	0.04
Total	ID	12.08	12.45	12.30	0.130	0.08
	ISD	1.67	1.54	1.63	0.077	0.02

<sup>ab</sup>Dentro de la misma fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $P<0.05$ ). EEM: error estándar de la media.

## Morfología intestinal

Se observa en el Cuadro 3 que no hay diferencia ( $P>0.05$ ) de la altura de vello para las distintas regiones del intestino delgado entre los lechones alimentados con las tres dietas experimentales; sin embargo, para los animales que consumieron la dieta CPP6 se encuentra unatendencia en duodeno ( $P=0.063$ ) e íleon

( $P=0.075$ ), indicando que el desarrollo de vello es mejor en comparación con aquellos alimentados con la dieta control. Con relación a la profundidad de cripta tampoco se observa un efecto ( $P>0.05$ ) de la dieta sobre la morfología de éstas. En el colon, hay una tendencia ( $P=0.078$ ) que indica mayor profundidad de cripta para los lechones de la dieta CPP8. La profundidad de la cripta es un indicador de que se está regenerando la vello, lo cual

coincide con una respuesta normal pues Ven-te-Spreewenbergh *et al.* (2003) señalan que hay una recuperación parcial dentro de los 10 días posteriores al destete. El hecho de que los animales de la dieta CPP6 tengan una tendencia a tener la mejor altura de vellosidad, coin-

cide con que el intestino empieza a recuperar la capacidad de digestión y absorción de nutrientes para compensar las pérdidas epiteliales. Así mismo, la menor gravedad de la diarrea evita que el daño al tejido sea mayor.

**Cuadro 3. Efecto del nivel de inclusión de CPP sobre la altura de las vellosidades (AV) y profundidad de las criptas (PC) intestinales.**

		Dietas Experimentales			P	EEM
		Control	CPP6	CPP8		
Duodeno (mm)	AV	222	310	256	0.063	15.42
	PC	265	276	273	0.872	10.09
Yeyuno (mm)	AV	244	280	247	0.590	17.30
	PC	237	252	262	0.573	10.35
Íleon (mm)	AV	198	284	250	0.075	15.72
	PC	229	221	215	0.426	4.78
Colon (mm)	PC	317	308	365	0.078	11.28

EEM: error estándar de la media.

## Digestibilidad

La digestibilidad ileal aparente (D<sub>ila</sub>) de la materia seca no varió ( $P>0.05$ ) entre las dietas experimentales (Cuadro 4). La digestibilidad ileal aparente de proteína cruda fue superior ( $P<0.05$ ) para la dieta CPP6 y CPP8 en comparación con la dieta control. El nivel de inclusión de CPP no afectó digestibilidad total aparente (DT<sub>a</sub>) de materia seca, proteína y energía ( $P>0.05$ ) con respecto a la dieta control libre de antibiótico. La presencia de CPP en la dieta no afecta la D<sub>ila</sub> de MS. Rubio (2018) tampoco reporta diferencias para la digestibilidad cuando

se añadió 4% de CPPa una dieta libre de antibiótico. Se puede considerar una digestibilidad de PC similar a la de una de dieta libre de antibiótico adicionada con plasma porcino (71.47 vs 71.3) (Rubio, 2018). Se ha reportado que el CPP puede contener factores antinutricionales como glucoalcaloides de solaninae inhibidores de enzimas proteolíticas, ambos actúan en el tracto gastrointestinal y pueden influir en la digestibilidad del CPP y la morfología del intestino de cerdos jóvenes como se encontró en el pollo (Túsnio *et al.*, 2011).

**Cuadro 4. Efecto del nivel de inclusión de CPP sobre la digestibilidad de los nutrimentos**

Digestibilidad	Dietas Experimentales			P	EEM
	Control	CPP6	CPP8		
Dla MS (%)	64.49	70.32	68.69	0.497	2.21
Dla PC (%)	62.22 <sup>b</sup>	71.47 <sup>a</sup>	70.18 <sup>a</sup>	0.046	1.49
DTa MS (%)	81.26	80.47	81.54	0.412	0.35
DTa PC (%)	73.91	71.53	74.02	0.142	0.59
DTa En (%)	78.03	77.41	78.29	0.681	0.44

<sup>ab</sup>Dentro de la misma fila, medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (P<0.05).EEM: error estándar de la media.

## Conclusiones

La inclusión de concentrado de proteína de papa al 6% en una dieta libre de antibiótico: mejoró el comportamiento productivo de los lechones, disminuyó la severidad de la diarrea, promovió el desarrollo de las vellosidades intestinales y mejoró la digestibilidad ileal aparente. El uso de 8% de CPP no mostró beneficio desde el punto de vista morfofisiológico con relación a la inclusión de 6% de CPP.

## Literatura Citada

- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. Bateman, J.V. 1970. Nutrición animal. Manual de métodos analíticos. Herrero Hnos., Sucesores, S.A. México. 269-280. de Souza, T. C. R., Barreiro, A. A., Rubio, S. R., González, Y. M., García, K. E., Soto, J. G. G., & Mariscal-Landín, G. (2019). Growth performance, diarrhoea incidence, and nutrient digestibility in weaned piglets fed an antibiotic-free diet with dehydrated porcine plasma or potato protein concentrate. *Ann Anim Sci*, 19(1), 159-172.
- Insuasti, A. S. G., Collazos, D. V., & Argote, F. E. (2008). Efecto de la dieta y edad del destete sobre la fisiología digestiva del lechón. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 6(1), 32-41.
- Liu, Y., Espinosa, C. D., Abelilla, J. J., Casas, G. A., Lagos, L. V., Lee, S. A., Kwon, W. B., Mathai, J. K., Navarro, D. M. D., Jaworski, N. W. & Stein, H. H. (2018). Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: a review. *Anim Nutr*, 4(2), 113-125.
- Ma, X. K., Shang, Q. H., Wang, Q. Q., Hu, J. X.,

- & Piao, X. S. (2019). Comparative effects of enzymolytic soybean meal and antibiotics in diets on growth performance, antioxidant capacity, immunity, and intestinal barrier function in weaned pigs. *Anim Feed Sci Tech*, 248, 47-58.
- Mizumachi, K., Aoki, R., Ohmori, H., Saeki, M., & Kawashima, T. (2009). Effect of fermented liquid diet prepared with *Lactobacillus plantarum* LQ80 on the immune response in weaning pigs. *Animal*, 3(5), 670-676.
- Myers, W., Ludden, P., Nayigihugu, V. y Hess, B., 2004. A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide 1. *J. Anim. Sci.* 82(1): 179-183.
- Pedersen, C., & Lindberg, J. E. (2004). Comparison of low-glycoalkaloid potato protein and fish meal as protein sources for weaner piglets. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Anim Sci*, 54(2), 75-80.
- Rubio, S. R. (2018). Efecto de la fuente de proteína dietética sobre la digestibilidad de los nutrientes en lechones destetados. Tesis de la Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. UAQ. México.
- SAS (2008). Statistical Analysis System. User's guide. SAS/ETS® 9.2. Cary, NC: SAS Institute, Inc. USA.
- Solà-Oriol, D., Roura, E., & Torrallardona, D. (2011). Feed preference in pigs: Effect of selected protein, fat, and fiber sources at different inclusion rates. *J. Anim Sci.*, 89(10), 3219-3227.
- Tuśnio, A., Pastuszewska, B., Świąch, E. & Taciak, M. (2011). Response of young pigs to feeding potato protein and potato fibre-nutritional, physiological and biochemical parameters. *J. Anim. Feed Sci*, 20(3), 361-378.
- Vallejos, A. R. R., Grajales, C. I. O., & Losada, D. F. (2014). Determinación de destete óptimo en lechones (*Sus scrofa domesticus*) en la Unidad Porcícola del Centro Agropecuario de Buga. *Revista Sennova: Revista Del Sistema De Ciencia, Tecnología E Innovación*, 1(1), 12-29.
- Vente-Spreuwenberg, M. A. M., Verdonk, J. M. A. J., Verstegen, M. W. A., & Beynen, A. C. (2003). Villus height and gut development in weaned piglets receiving diets containing either glucose, lactose or starch. *Brit J Nutr*, 90(5), 907-913.
- Wellock, I., Fortomaris, P., Houdijk, J., & Kyriazakis, I. (2008). Effects of dietary protein supply, weaning age and experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection on newly weaned pigs: Performance. *Animal*, 2(6), 825-833.

# Pérdida del potencial de membrana mitocondrial por acción de la Casiopeína® IIIa en células de neuroblastoma

*Jaime-Martínez LA*

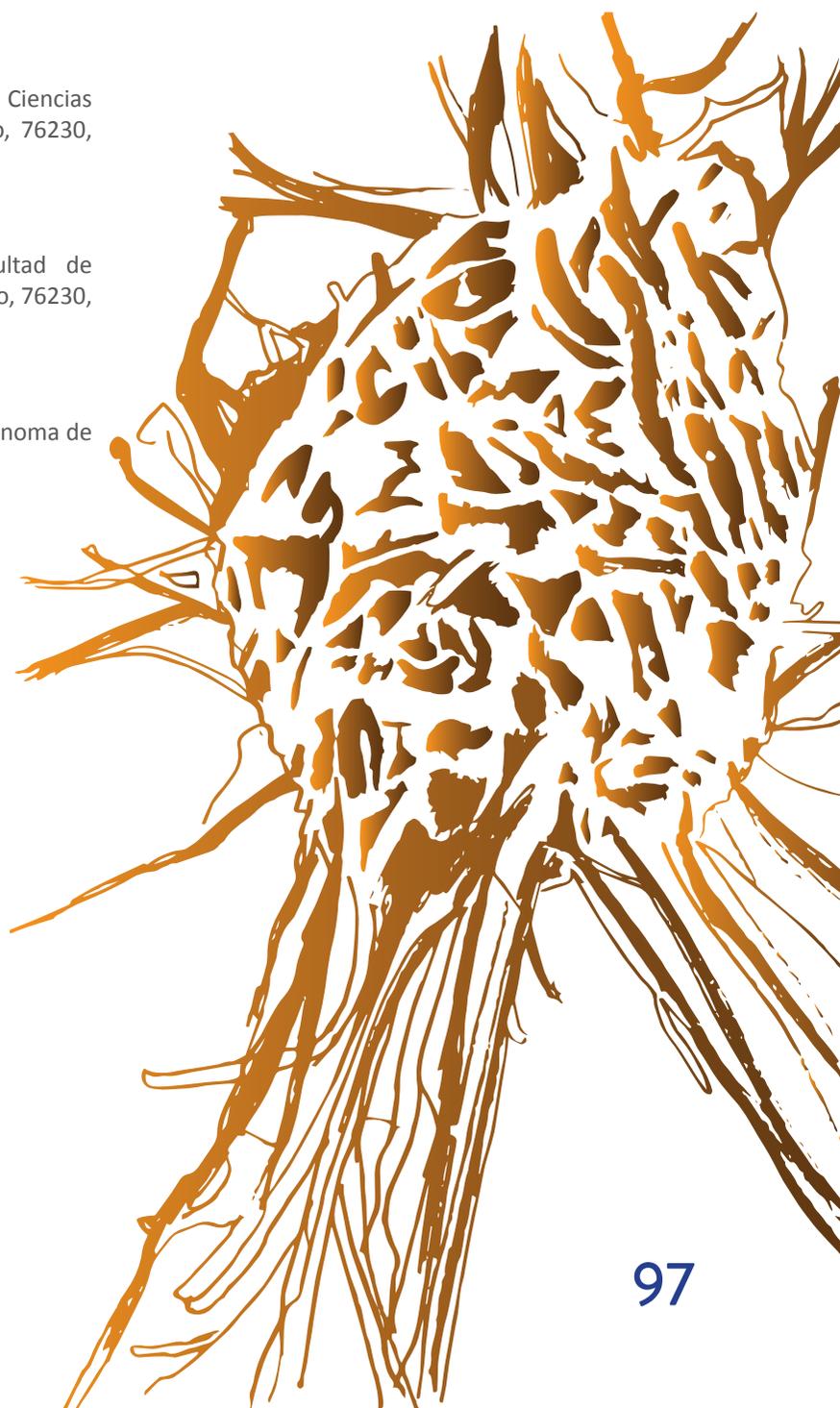
Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, 76230, Querétaro.

*Hernández-Benítez JL*

Maestría en Ciencias en Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro, 76230, Querétaro.

*Ruiz-Azuara L*

Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Ciudad de México



# Introducción

El neuroblastoma (NB) es un tumor embrionario del sistema nervioso simpático que se deriva de células de la cresta neural, y se localiza frecuentemente en las glándulas suprarrenales (Huang y Weiss, 2013). Es considerado el tumor sólido extracraneal más común de la infancia, representa aproximadamente del 8-10% de las neoplasias malignas pediátricas y es responsable del 15% de las muertes por cáncer infantil (Davidoff, 2012). El NB presenta una enorme heterogeneidad biológica, tanto así, que su comportamiento abarca desde la regresión espontánea por activación de los mecanismos de apoptosis en el estadio 4s ("*s*" *special*), hasta los casos de metástasis altamente agresivos durante los estadios 3 y 4 los cuales responden pobremente al tratamiento (Louis y Shohet, 2015). La mayoría de los quimioterapéuticos ejercen su acción mediante apoptosis mitocondrial; sin embargo, los efectos secundarios son considerables, tal y como sucede con el cisplatino que puede provocar ototoxicidad, nefrotoxicidad y mielosupresión (Davidoff, 2012).

En la búsqueda de nuevos compuestos con menores efectos tóxicos, se desarrollaron las Casiopeínas<sup>®</sup> (Cas), una familia de compuestos de coordinación con un centro activo de cobre(II) (Ruiz-Azuara, 1994, (Ruiz-Azuara, 1992; Ruiz-Azuara, 1996; Ruiz-Azuara, 2002) que han mostrado una gran actividad antineoplásica tanto *in vitro* como *in vivo* (Carvallo *et al.*, 2006; Gutiérrez *et al.*, 2013). El mecanismo de acción consiste en el aumento del estrés oxidativo ocasionado por la generación de especies

reactivas de oxígeno (ERO) como el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido, los cuales alteran el estado basal de los organelos; la expresión de moléculas apoptóticas mitocondriales como Bcl-2, Bax y citocromo C o (cit-C) las caspasas-3, -9 y -10 (Espinal-Enríquez *et al.*, 2016; García-Ramos *et al.*, 2017, Vázquez-Aguirre *et al.*, 2019). Todo esto es el resultado de la caída del potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\psi_m$ ), lo que permite la activación del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial (PTPm).

La comprensión de la muerte celular programada en el NB resulta interesante como un mecanismo para atacar al propio tumor, y una manera de estimular el fenómeno apoptótico es mediante la activación del PTPm. Este proceso involucra el ensamble de un complejo proteico que es reclutado en el momento en que la mitocondria sensa el daño, y está constituido por la translocasa del nucleótido de adenina (ANT) inmersa en la membrana mitocondrial interna (MMI), la hexocinasa (HK) en el citoplasma, el canal aniónico dependiente de voltaje (VDAC) en la membrana mitocondrial externa (MME) y la ciclofilina D (CypD) (Shoshan-Barmatz V, *et al.*, 2017). A su vez, el PTPm forma un canal no-selectivo que permite la salida de cit-C, así como la entrada de  $Ca^{2+}$  (Izzo *et al.*, 2016).

Debido a la localización entre los límites del citoplasma y la MME, VDAC es un componente de unión común a otras proteínas que regulan diversas funciones mitocondriales y celulares. Una de las funciones más importantes de VDAC es el transporte regulado de  $Ca^{2+}$  ya que posee un dominio de unión a éste, por lo que

su inactividad conlleva a la retención y flujo del  $\text{Ca}^{2+}$  en la mitocondria (Ponnalagu y Singh, 2017). Por otra parte, la HK tiene la capacidad de responder a la acción proapoptótica de proteínas de la familia Bcl-2 y presentar una alta afinidad de unión a VDAC. La HKII es abundante en tejido del músculo cardíaco y en células tumorales como el NB. Cataliza la primera etapa de la ruta glucolítica, donde la glucosa es fosforilada a glucosa-6-fosfato por medio de la transición de un grupo fosfato de ATP. Actualmente existe evidencia sobre el papel dual que puede tener la HKII al actuar como un importante regulador apoptótico, dependiendo a qué miembros de la familia Bcl-2 esté relacionado (Wu J, et al., 2017). A su vez, la

CypD se ha documentado como un componente aún más relevante en la función del PTPm. La CypD es una peptidilpropil *cis-trans* isomerasa cuyo rol principal es la apertura del PTPm y se encuentra acoplada a VDAC y ANT en la membrana mitocondrial interna. La CypD se considera como un regulador maestro en la apoptosis mediante el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  y las ERO (Porter y Beutner, 2018). Así, cada una de las proteínas mencionadas puede regular los mecanismos de apoptosis mitocondrial. En este sentido, la inhibición de dichos componentes podría proporcionar información sobre su papel en la vía intrínseca de la apoptosis. A su vez, es importante determinarse si estos componentes proteicos son cruciales en el mecanismo de acción de las Casiopeínas. Paralelamente a esto, existen inhibidores farmacológicos de varios componentes específicos del PTPm. Como es el caso del agente alquilante 3-bromopiruvato

(3BrPyr), un potente inhibidor de la HKII. Esto provoca el bloqueo de la glucólisis y la pérdida energética ocasiona que la célula entre en apoptosis, por lo que se clasifica como un agente anticancerígeno (Guo *et al.*, 2014). Marín y cols. (2012) reportaron que la CasIIgly actúa como un inhibidor del glicólisis más potente que el 3BrPyr, lo que proporciona un dato importante sobre la posible interacción de las Casiopeínas con la HKII y por ende en la estructura del PTPm (Marín *et al.*, 2012). Por último, la ciclosporina A (CsA) es un inmunosupresor que inhibe la apertura del PTPm mediante su interacción con CypD, esto provoca que el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial se vea disminuido. Por lo que, al contrario de los inhibidores antes mencionados, le confiere un efecto protector sobre las células para eludir la apoptosis mitocondrial (Giorgio *et al.*, 2010). En base a lo anterior, el presente trabajo pretende determinar si el tratamiento con Casiopeínas propicia la activación de las proteínas HKII y CypD y, por ende, promueven la inducción de la muerte celular programada.

## Metodología

**Cultivo celular** -- Se realizó la expansión de la línea celular de SK-N-SH (sin amplificación del oncogén N-myc) en medio esencial mínimo de Eagle (EMEM, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO USA), suplementado con el 10% de suero fetal bovino (SFB) y 100 U/ml de estreptomycin y penicilina. Las células se incubaron a 37°C, en estufa de  $\text{CO}_2$  al 5% y humedad constante.

**Inhibición farmacológica del CypD VDAC y HK en células de NB** -- Las células ( $1 \times 10^6$ ) se expusieron, de manera particular, a 3BrPyr (31  $\mu\text{M}$ ) y CsA (10  $\mu\text{M}$ ) (Sigma Chemical Co<sup>®</sup>, Saint Louis Missouri, MO, USA), durante 1h para inactivar a HKII y CypD, respectivamente.

**Tratamiento con Casiopeína IIIa** -- Posterior a la inhibición, las células se trataron con 69.7  $\mu\text{M}$  de Casiopeína IIIa y 123.3  $\mu\text{M}$  de cisplatino por un periodo de 4h (Gutiérrez *et al.*, 2013).

**Retención de Calcio** -- La determinación de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  se realizó por medio del reactivo éster acetoximatpílico de Fura-2, AM, FluoroPure™ grade–Special Packaging (Molecular Probes, Eugene, OR, EE.UU.). Las células se lavaron con PBS y posteriormente mediante centrifugación diferencial se aislaron las mitocondrias y el pellet se resuspendió en un 1 mL de PBS 1X. Se incubaron 100  $\mu\text{L}$  por pozo de esta muestra y se incubaron en una placa de 96 pozos durante 1h, con el reactivo Fura-2AM a temperatura ambiente en oscuridad. La retención del  $\text{Ca}^{2+}$  se cuantificó mediante la detección de fluorescencia de excitación y emisión máxima a 340/380 nm en un detector de fluorescencia de microplacas Varioskan Flash (ThermoFisher Scientific, Waltham, Massachusetts, EE.UU.).

## Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar con una significancia de  $p < 0.05$ . Los datos se analizaron para diferencias

significativas entre los grupos mediante ANOVA. Se utilizó el software estadístico GraphPad Prism Version 7.0 (La Jolla CA, USA).

## Resultados y Discusión

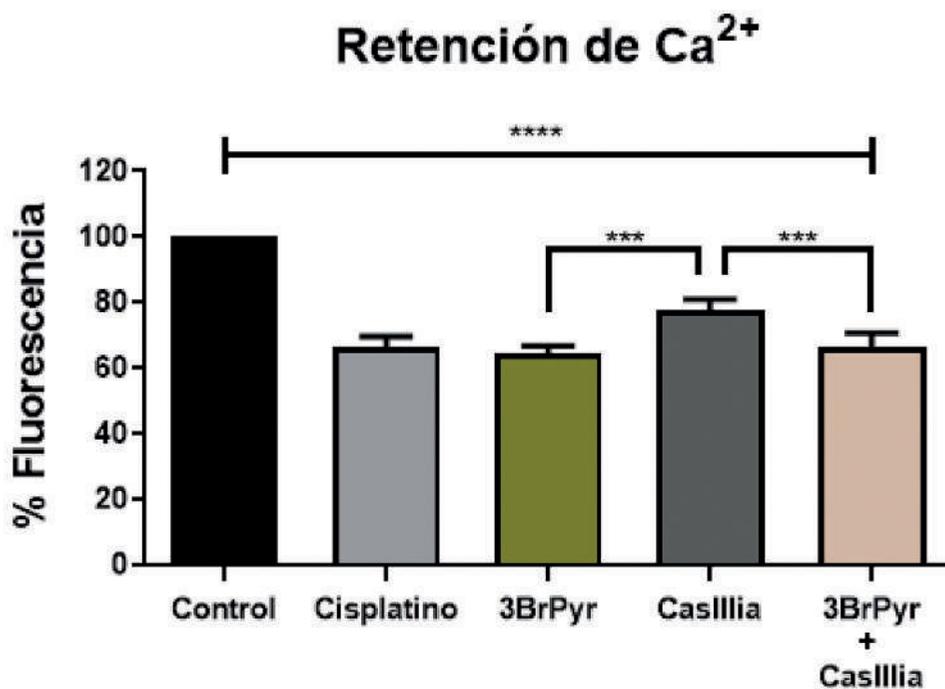
### Capacidad de retención de $\text{Ca}^{2+}$ por inhibición de HKII

Es claro que para inducir la apoptosis intrínseca es necesaria la formación de PTPm para permitir la permeabilidad de las membranas mitocondriales. La capacidad de unión de la HKII a VDAC la convierte en un elemento importante en la estructura del poro. En base a lo anterior, nos preguntamos si la inactivación de las HKII podría influir en la despolarización de la mitocondria e intervenir en la acción apoptótica de la Casiopeína IIIa. Para responder a esta pregunta, se expusieron células de NB con 3BrPyr por un periodo de 1h para garantizar la inactivación de HKII. Posteriormente, las células se trataron con CasIIIa durante 4h, y, por último, se observó si el mecanismo de acción las Casiopeínas se vio disminuido, a través de la capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  por parte de las mitocondrias.

Los resultados en la **figura 1**, mostraron una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ) en la capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  entre el grupo control (sin tratamiento) y el resto de los

grupos. Lo cual demuestra que tanto el inhibidor 3BrPyr y los tratamientos con cisplatino y CasIIIa, permiten la despolarización de la mitocondria y liberan el  $\text{Ca}^{2+}$  contenido en ella. Por otra parte, la exposición a 3BrPyr durante 1h provoca la salida de  $\text{Ca}^{2+}$ , comparado con el grupo tratado con

CasIIIa por 4h( $p=0.0001$ ). A su vez, la pérdida de la capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial fue significativamente ( $p=0.0001$ ) mayor en el grupo expuesto con 3BrPyr y CasIIIa (1h y 4h, respectivamente) contra el grupo tratado solo con CasIIIa.



**Figura 1. Pérdida de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  por inhibición de HKII. Células de neuroblastoma SK-N-SH, Control (sintratamiento), Cisplatino ( $123.3 \mu\text{M}$ ), 3BrPyr ( $31 \mu\text{M}$ ) y CasIIIa ( $69.7 \mu\text{M}$ ). \*\*\*\* valor de  $p<0.0001$ , \*\*\* valor  $p=0.0001$ .**

Lo anterior demuestra que la inactivación de HKII promueve la pérdida del  $\Delta\psi\text{m}$ . Esto debido principalmente al decaimiento la glucólisis, principal fuente de energía en tumores sólidos(Wuarbug,1956). Por su parte, la CasIIIa

puede prescindir de la actividad HKII y promover la permeabilidad de la mitocondria en las células de NB (Marín *et al.*, 2012).

## Capacidad de retención de $\text{Ca}^{2+}$ por inhibición de CypD

Está ampliamente reportada la importancia de la función de CypD en la formación del PTPm y su actividad. La inactivación de CypD permite en menor medida la pérdida del  $\Delta\psi_m$  y, por ende, una mayor capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  por parte de las mitocondrias. Esto se traduce en una defensa de las células contra la apoptosis mitocondrial (Fakharnia *et al.*, 2017). Referente a esto, quisimos observar si la pérdida de la actividad de CypD puede influir en el mecanismo de acción de la CasIIIa e impedir que ésta promueva la apoptosis mitocondrial en el NB.

Para promover la inactividad de CypD, las células se expusieron a CsA durante 1h. Enseguida se trataron con CasIIIa por 4h y se determinó la capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial.

La inhibición de la actividad de CypD por ciclosporina A mantiene las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  en las mitocondrias de forma similar al grupo control sin tratamiento, lo cual nos dice que la pérdida de la función de CypD, no afecta la integridad de la mitocondria (**Fig. 2**). No así en presencia

## Retención de $\text{Ca}^{2+}$

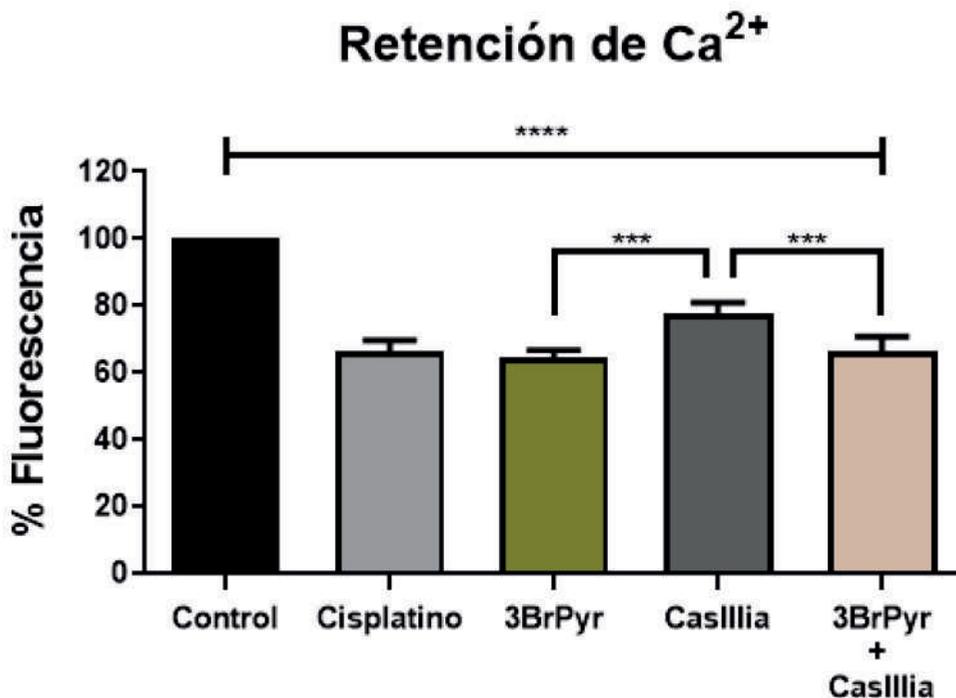


Figura 2. Pérdida de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  por inhibición de HKII. Células de neuroblastoma SK-N-SH, Control (sintratamiento), Cisplatino (123.3  $\mu\text{M}$ ) CsA (10  $\mu\text{M}$ ) y CasIIIa (69.7  $\mu\text{M}$ ). \*\*\* valor de  $p=0.0006$ .

de los tratamientos de cisplatino y CasIIIa, que resulta evidente una diferencia ( $p < 0.0001$ ) entre el grupo control y los grupos tratados con cisplatino y CasIIIa (**Fig. 2**), como se observó en la **figura 1**. Por otra parte, el grupo CsA muestra una retención de  $\text{Ca}^{2+}$  superior a los grupos de CasIIIa y CsA+CasIIIa ( $p = 0.0006$ ). Por su parte, el grupo con CasIIIa presentó una concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  significativamente menor ( $p = 0.0006$ ) al de grupo CsA+CasIIIa.

Esto indica que la inhibición de la actividad de CypD por acción de su inhibidor, está impidiendo parcialmente la pérdida del  $\Delta\psi_m$  en las células de NB por acción de la CasIIIa. Esto demuestra que la CypD regula la estabilidad de la permeabilidad mitocondrial a través de la regulación de la actividad del PTPm, lo que impide la despolarización de este organelo. A su vez, al mecanismo oxidante de las Casiopeínas y su posible acción como agente intercalante al DNA, pueden propiciar un ambiente poco favorable para la viabilidad de las células de NB, lo que propicia la apoptosis mitocondrial, a pesar de haber expuesto a las células a un agente protector de la muerte, al igual que lo demostraron Silva-Platas y cols. en 2015 en cardiomiocitos de ratón (Silva-Platas *et al.*, 2015).

## Conclusiones

Debido a los múltiples puntos de acción de las Casiopeínas, éstas pueden prescindir de la inactivación de proteínas que intervienen en la activación del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial, como la HKII y la CypD.

Lo anterior, nos conduce a enfocar las investigaciones futuras sobre otros componentes del PTPm que pueden ser decisivos para que selleve a cabo la apoptosis mitocondrial en el neuroblastoma.

## Literatura citada

- Botzer, LE, Maman, S., Sagi-Assif, O., Meshel, T., Nevo, I., Yron, I. y Witz, IP (2016). La hexoquinasa 2 es un determinante de la metástasis del neuroblastoma. *Revista británica de cáncer*, 114 (7), 759–766.
- Espinal-Enríquez J, Hernández-Lemus E, Mejía C and Ruiz-Azuara L. (2016). Network analysis shows novel molecular mechanisms of action for copper-based chemotherapy. *Front Physiol.* 6:406.
- Fakharnia, F., Khodagholi, F., Dargahi, L., & Ahmadiani, A. (2017). Prevention of cyclophilin D-mediated mPTP opening using cyclosporine-A alleviates the elevation of necroptosis, autophagy and apoptosis-related markers following global cerebral ischemia-reperfusion. *Journal of Molecular Neuroscience*, 61(1), 52-60.
- García Ramos, J. C., Gutiérrez, A. G., Vázquez Aguirre, A., Toledano Magaña, Y., Alonso Sáenz, A. L., Gómez Vidales, V., Ruiz Azuara, L. (2017). The mitochondrial apoptotic pathway is induced by Cu(II) antineoplastic compounds (Casiopeínas®) in SK-N-SH neuroblastoma cells after short exposure times. *BioMetals*. 30 (1), 43–58.
- Giorgio, V., Soriano, M. E., Basso, E., Bisetto, E., Lippe, G., Forte, M. A., & Bernardi, P. (2010). Cyclophilin D in mitochondrial pathophysiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797(6-7), 1113-1118.
- Huang, M., y Weiss, WA. (2013). Neuroblas-

- toma y MYCN. *Perspectivas de Cold Spring Harbor en medicina*. 3 (10).
- Izzo V, Bravo-San Pedro JM, Sica V, Kroemer G, Galluzzi L. (2016). Mitochondrial Permeability Transition: New Findings and Persisting Uncertainties. *Trends Cell Biol*, 26(9): 655-667.
- Louis CU, Shohet JM. (2015). Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy. *Annu Rev Med*. 66:49-63.
- Marín Hernández, A., Gallardo Pérez, J. C., López Ramírez, S. Y., García García, J. D., Rodríguez Zavala, J. S., Ruiz Ramírez, L., Rodríguez Enríquez, S. (2012). Casiopeina II-gly and bromo-pyruvate inhibition of tumor hexokinase, glycolysis, and oxidative phosphorylation. *Archives of Toxicology*. 86(5): 753–766.
- Pinto, N. R., Applebaum, M. A., Volchenbom, S. L., Matthay, K. K., London, W. B., Ambros, P. F., Nakagawara, A., Berthold, F., Schleiermacher, G., Park, J. R., Valteau-Couanet, D., Pearson, A. D., & Cohn, S. L. (2015). Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(27), 3008–3017.
- Ponnalagu D, Singh H. (2017). Anion Channels of Mitochondria. *Handb Exp Pharmacol*. 240:71-101.
- Porter GA Jr, Beutner G. 2018. Cyclophilin D, Somehow a Master Regulator of Mitochondrial Function. *Biomolecules*. 14;8(4).
- Ruiz-Azuara L (1996) Process to obtain new mixed copper aminoacidate from methylate phenanthroline complexes to be used as anticancerigenic agents. USA, Patent No. 5,576,326 (07/628,628). 1992.
- Ruiz-Azuara L (1997) Process to obtain new mixed copper amino acidatecomplexes from phenylatephenanthroline to be used as anticancerigenic agents. Patent No. 07/628843, US5107005 A, 1992, RE 35458, US RE35, 458E.Shoshan-Barmatz V, Krelin Y, Shteinfer-Kuzmine A and Arif T. (2017). Voltage-Dependent Anion Channel 1 As an Emerging Drug Target for Novel Anti-Cancer Therapeutics. *Front. Oncol*. 7:154.
- Ruiz-Azuara, L. Mark Title Casiopeína, Reg. 407543 SECOFI, 1992, 2002. Ruiz-Azuara, L. United State Patent 1992, vol. RE 35,458. Washington, DC.Ruiz-Azuara, L. United State Patent 1996, vol. 5, 576,326.
- Shoshan-Barmatz, V., Krelin, Y., Shteinfer-Kuzmine, A., & Arif, T. (2017). Voltage-Dependent Anion Channel 1 As an Emerging Drug Target for Novel Anti-Cancer Therapeutics. *Frontiers in oncology*, 7, 154.
- Silva-Platas, C., Guerrero-Beltrán, C. E., Carrancá, M., Castillo, E. C., Bernal-Ramírez, J., Oropeza-Almazán, Y. & Ruiz-Azuara, L. (2016). Antineoplastic copper coordinated complexes (Casiopeinas) uncouple oxidative phosphorylation and induce mitochondrial permeability transition in cardiac mitochondria and cardiomyocytes. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 48(1), 43-54.
- Warburg O. 1956. On the origin of cancer cells. *Science*.
- Wu J, Hu L, Wu F, Zou L, He T. (2017). Poor prognosis of hexokinase 2 overexpression in solid tumors of digestive system: a meta-analysis. *Oncotarget*. 8 (19): 32332-32344

# Evaluación de composición corporal y ángulo de fase en mujeres con diagnóstico de hipotiroidismo clínico

*Medina García, A.*

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

*Martínez González, O.*

*Robles Osorio, M. L.*

*Rangel Peniche, D. B.*

*Martínez Peña, M. G.*

*Aguilera Barreiro, M. A. T.*

## Introducción

Se denomina hipotiroidismo al estado clínico caracterizado por una menor producción de hormonas tiroideas (Brent & Weetman, 2016) manifestándose, en función del grado de deficiencia en todos los sistemas orgánicos (Hernández, 2016). La prevalencia reportada de esta patología a nivel mundial oscila entre 0.2-1.1% (Hollowell et al., 2002; Takeda et al., 2009; Sánchez et al., 2012; Robles et al., 2014) y afecta en mayor proporción a mujeres (Vanderpump et al., 1995). Las hormonas tiroideas ejercen un rol crítico sobre el gasto energético, masa corporal y composición corporal (McAninch & Bianco, 2014), por lo que esta patología se

asocia con reducción del gasto energético en reposo, ganancia de peso y cambios en la composición corporal (Mullur, Liu, & Brent, 2014). Existen estudios que han evaluado el impacto de esta enfermedad sobre la composición corporal, observando que al comparar a sujetos eutiroideos con terapia de reemplazo de levotiroxina contra controles sanos, existe una diferencia significativa de peso (Bakiner, Bozkirli, Duygu, & Ozsahin, 2013; Peterson, McAninch, & Bianco, 2016) incluso a pesar de reportar un menor consumo energético (Peterson et al., 2016). Los estudios disponibles en relación al tema son de diversos países, entre los cuales no destaca México. Un método para medir la composición corporal es el análisis de bio-

impedancia, el cual se basa en las propiedades conductoras del cuerpo humano (Fosbøl & Zerahn, 2015). A través de este método es posible conocer el ángulo de fase, conocido por ser un valor predictivo de deterioro clínico y mortalidad en variedad de enfermedades; este dato se ha sugerido como indicador de salud celular, donde valores más altos son reflejo de celularidad, integridad de la membrana celular y mejor función celular (Norman, Stobäus, Pirlich, & Bosy, 2012). Existe poca información acerca de su importancia en pacientes con hipotiroidismo, siendo utilizado solamente por Seppel, Kosel, & Schlaghecke (1997).

La relevancia de este proyecto de investigación radica en conocer si en México son equiparables los resultados comparados con los estudios reportados hasta la fecha, además de concientizar acerca de la importancia de conocer de forma precisa la composición corporal individual dado que brinda información sumamente útil para que el nutriólogo pueda llevar a cabo un tratamiento nutricional adecuado al paciente. Por todo lo expuesto anteriormente, el siguiente proyecto pretende evaluar la composición corporal y ángulo de fase en mujeres de 20-65 años con diagnóstico de hipotiroidismo clínico y en mujeres sanas residentes del estado de Querétaro.

## Metodología

El presente fue un estudio transversal, descriptivo, observacional y comparativo desarrollado en mujeres. Las participantes fueron invitadas a través de diversas redes sociales y captadas en

la consulta de nutrición en la Clínica Universitaria de Nutrición “Dr. Carlos Alcocer Cuarón”. Toda mujer que cumplió con los criterios para su participación fue valorada en la clínica, ubicada en la Universidad Autónoma de Querétaro campus Juriquilla en Santiago de Querétaro, México.

Los criterios de inclusión comprendieron a mujeres de entre 20-65 años de edad con diagnóstico previo de hipotiroidismo clínico en tratamiento farmacológico y mujeres aparentemente sanas sin historial de alteraciones tiroideas, con IMC 18.5-39.9 kg/m<sup>2</sup>, mexicanas, residentes del estado de Santiago de Querétaro, México, y en ambos casos fue necesario presentar un perfil tiroideo previamente realizado que mostrara valores dentro de rangos normales. Los criterios de exclusión incluyeron a mujeres que padecían enfermedades crónico-degenerativas o insuficiencias orgánicas, uso de medicamentos que alteran la función tiroidea o la homeóstasis de agua olípidos, y dificultades para realizarse el estudio de impedancia. Se eliminaron a aquellas mujeres que no completaron todas las pruebas.

A las mujeres interesadas en participar y que cumplieron con todos los criterios de inclusión se les agendó cita para su valoración. Se indicaron las condiciones en las que había que acudir a su cita, y se pidió anotar todos los alimentos y bebidas consumidos en 2 días de entre semana y 1 día de fin de semana previos al día de su valoración.

El día de valoración se indicó inicialmente leer y firmar el consentimiento informado.

Después se llevó a cabo una entrevista para realizar su expediente clínico-nutricio seguido de la medición de los datos antropométricos de talla, cintura y cadera los cuales fueron medidos mediante la técnica de la Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (ISAK) y con ayuda del estadímetro Harpenden y la cinta metálica Lufkin. Finalmente se midió la composición corporal por BIVA mediante el equipo medical Body Composition Analyzer mBCA SECA 514® y utilizando la técnica de medición indicada por el fabricante.

Para el procesamiento de datos y análisis estadístico, se utilizó el paquete estadístico SPSS versión

23. Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad de los datos. Para comprobar la hipótesis, se utilizó en variables numéricas la prueba T de student para muestras independientes en caso de distribución homogénea de los datos y la prueba U de Mann-Whitney en caso de distribución no homogénea de datos; además se utilizó la prueba de asociación de chi cuadrada en el caso de variables categóricas. Se tomó como significancia estadística un valor de  $p < 0.05$ .

El protocolo fue evaluado y aprobado por el Comité de Bioética y la Facultad de Ciencias Naturales con número de registro 07FCN2019, se apega los artículos 96 a 103 de la Ley General de Salud y a los criterios de la declaración de Helsinki.

## Resultados y discusión

En total se valoraron 30 mujeres, de las cuales 15 fueron controles y 15 presentaron diagnóstico de hipotiroidismo clínico en tratamiento farmacológico. Contrario a lo esperado, no se identificaron diferencias significativas en las variables antropométricas y de composición corporal entre grupos (Cuadro 6.1). Los resultados de composición corporal son comparables a los reportados por Cerit et al. (2015), donde al valorar a sujetos sanos y sujetos con hipotiroidismo en tratamiento mediante DXA no observaron diferencia entre grupos en variables de composición corporal (peso  $66.0 \pm 10.9$  vs.  $69.9 \pm 9.5$  kg,  $p = 0.067$ ; masa grasa  $24.7 \pm 8.1$  vs.  $27.3 \pm 7.4$  kg,  $p = 0.208$ ; masa magra  $36.4$  vs.  $37.9$  kg,  $p = 0.198$ ). En relación al ángulo de fase tampoco se observó diferencia significativa entre grupos, obteniendo valores similares a los obtenidos por Jensen et al. (2018) quienes observaron en mujeres mexicanas sanas un valor de ángulo de fase promedio de  $5.2 \pm 0.4^\circ$ .

**Cuadro 0.1 Análisis descriptivo de variables antropométricas y de composición corporal entre grupos**

Variable	Total (n= 30)	Controles (n= 15)	Hipotiroidismo (n= 15)	p valor*
		Media ± DE		
Edad (años)	35.0 ± 9.8	31.8 ± 9.3	38.3 ± 9.4	0.06
Peso (kg)	66.9 ± 10.6	67.0 ± 11.5	66.9 ± 10.0	0.96
Talla (m)	1.58 ± 0.05	1.58 ± 0.06	1.59 ± 0.05	0.54
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26.6 ± 4.6	26.8 ± 4.3	26.4 ± 5.0	0.84
Masa grasa (%)	38.0 ± 6.4	38.3 ± 5.8	37.8 ± 7.2	0.83
IMG (kg/m <sup>2</sup> )	10.3 ± 3.3	10.4 ± 3.2	10.2 ± 3.6	0.86
Masa magra (%)	61.9 ± 6.4	61.6 ± 5.8	62.1 ± 7.2	0.83
IMM (kg/m <sup>2</sup> )	16.2 ± 1.6	16.3 ± 1.3	16.2 ± 1.8	0.85
Masa músculo esquelética (kg)	17.9 ± 2.4	17.9 ± 2.7	17.9 ± 2.2	0.98
Ángulo de fase (°)	5.1 ± 0.4	5.1 ± 0.3	5.1 ± 0.6	0.91
Agua corporal total (%)	45.4 ± 4.4	45.2 ± 4.1	45.7 ± 4.9	0.75
Agua extracelular (%)	19.8 ± 1.8	19.5 ± 1.4	20.2 ± 2.0	0.30
AEC/ACT (%)	43.8 ± 2.0	43.3 ± 1.9	44.3 ± 2.0	0.19
Resistencia (Ω)	713.6 ± 92.1	738.1 ± 98.0	689.2 ± 81.9	0.14
Reactancia (Ω)	64.3 ± 8.2	66.8 ± 8.5	61.8 ± 7.4	0.09
Circunferencia abdominal (cm)	90.2 ± 11.8	92.1 ± 10.8	88.3 ± 12.8	0.38
Circunferencia de cadera (cm)	102.9 ± 8.0	103.5 ± 8.6	102.3 ± 7.6	0.68
ICC (cm <sup>2</sup> )	0.87 ± 0.07	0.88 ± 0.04	0.85 ± 0.09	0.30
Grasa visceral (l)	2.8 ± 2.1	3.2 ± 2.8	2.3 ± 0.9	0.22

Acorde al diagnóstico de composición corporal brindado por BIVA (Figura 6.1), la mayor parte de las mujeres control se clasificaron en obesidad creciente (40%) y magrez creciente (40%); en relación a las mujeres con hipoti-

roidismo, la mayor parte fueron clasificadas en magrez creciente (53.3%) seguido de obesidad creciente (26.7%). No se observó asociación entre el diagnóstico de hipotiroidismo e incremento de masa grasa o disminución de masa magra.

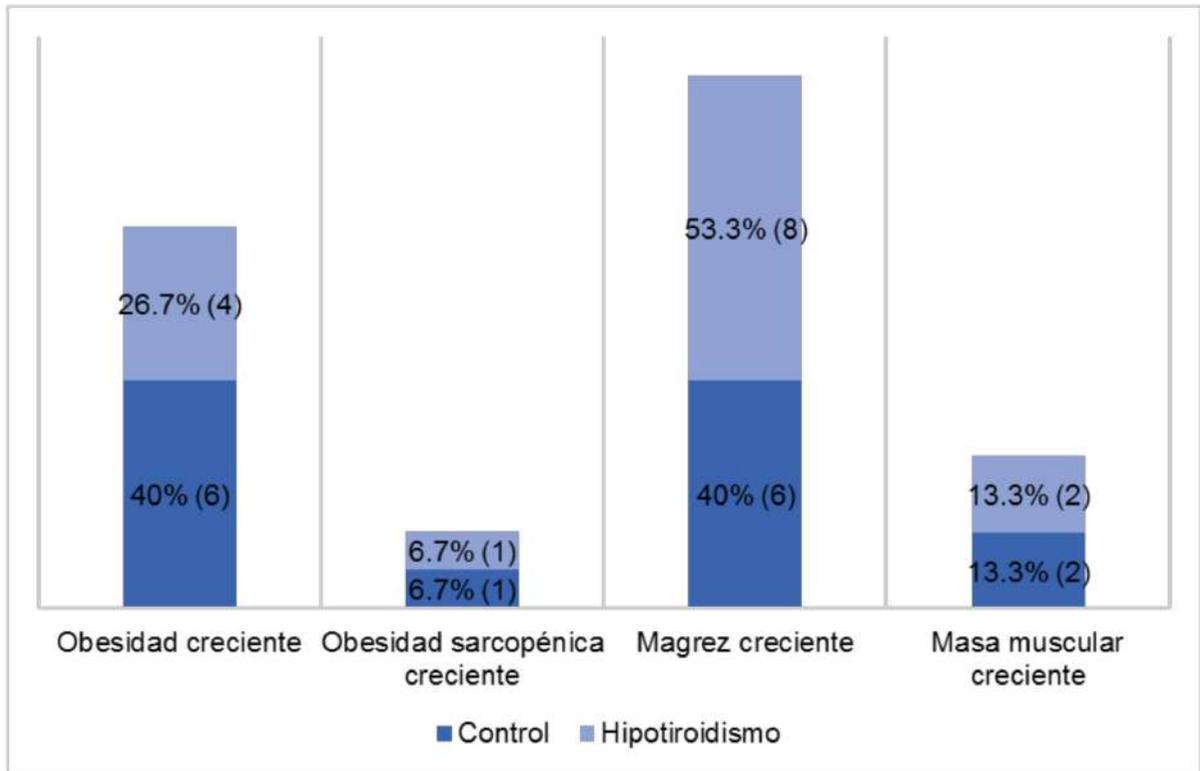


Figura 6.1. Clasificación de las mujeres participantes acorde al diagnóstico de composición corporal.

Se identificó una tendencia a mayor consumo de energía entre las mujeres control que entre las mujeres con hipotiroidismo (Cuadro 6.2). De todas las variables de consumo dietético analizadas, sólo se observó diferencia en el consumo de etanol. El consumo promedio de los macronutrientos hidratos de carbono, proteínas y lípidos se encontraron en rangos de equilibrio diario recomendado (Splett, 2014). El consumo de azúcar fue elevado ( $172.2 \pm 96.6$  %), mientras que la adecuación de fibra fue deficiente ( $57.9 \pm 25.6$ %) (Brown, 2014; OMS, 2015).

En cuanto al consumo promedio de micronutrientos, se observó que la vitamina C ( $133.7 \pm 87.7$ %) se ingirió de forma adecuada entre la población estudiada, mientras que la adecuaciones para diferentes micronutrientos representaron un consumo por debajo de la ingesta dietética recomendada (Bourges, Casanueva, & Rosado, 2009): ácido fólico ( $32.3 \pm 14.6$  %), hierro ( $52.6 \pm 23.2$  %), calcio ( $66.8 \pm 36.9$  %), yodo ( $75.4 \pm 56.1$  %), y vitamina A ( $77.9 \pm 53.1$  %).

**Cuadro 0.2 Análisis descriptivo de variables de consumo dietético entre grupos**

Variable	Total (n= 30)	Controles (n= 15)	Hipotiroidismo (n= 15)	p val- or*
		Media ± DE		
Energía (kcal)	1,471.8 ± 455.1	1,570.6 ± 441.4	1,372.9 ± 461.7	0.24
Energía (kcal/kg)	21.6 ± 7.7	19.9 ± 7.6	23.4 ± 7.7	0.22
Proteína (%)	19.9 ± 5.2	19.5 ± 4.3	20.2 ± 6.1	0.73
Proteína (g/kg)	1.0 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.2	0.26
Lípidos (%)	29.8 ± 6.3	28.1 ± 3.3	31.4 ± 8.1	0.16
Colesterol (mg)	224.5 ± 122.9	186.8 ± 105.9	262.1 ± 130.5	0.09
Hidratos de carbono (%)	50.2 ± 8.6	52.2 ± 5.1	48.3 ± 11.0	0.21
Azúcar (g)	37.2 ± 20.0	40.6 ± 21.3	33.9 ± 18.9	0.37
Fibra (g)	14.4 ± 6.4	16.0 ± 5.7	12.8 ± 6.8	0.17
Vitamina A (µg)	444.0 ± 302.8	404.4 ± 280.8	483.6 ± 328.1	0.48
Ácido fólico (mg)	148.7 ± 67.2	147.5 ± 57.2	149.8 ± 77.9	0.92
Vitamina C (mg)	100.3 ± 65.8	123.6 ± 66.1	77.0 ± 58.6	0.05
Selenio (µg)	45.3 ± 41.1	43.1 ± 25.7	47.6 ± 53.1	0.77
Hierro (mg)	10.8 ± 4.7	10.6 ± 2.4	10.9 ± 6.4	0.83
Yodo (µg)	113.1 ± 84.2	125.6 ± 102.0	100.5 ± 62.9	0.42
Sodio (mg)	1,410.3 ± 784.7	1,488.4 ± 908.3	1,332.3 ± 661.4	0.59
Potasio (mg)	757.5 ± 413.3	790.8 ± 371.5	724.2 ± 462.0	0.66
Calcio (mg)	672.9 ± 370.5	803.5 ± 394.4	542.4 ± 303.9	0.05
Fósforo (mg)	13.5 ± 25.3	13.3 ± 24.5	13.8 ± 26.9	0.96
Etanol (g)	1.3 ± 3.4	0.0 ± 0.0	2.6 ± 4.5	-

# Conclusiones

Al no observar diferencias en las variables de composición corporal entre las mujeres valoradas, podemos concluir que entre las mujeres participantes el padecer hipotiroidismo no es un factor predisponente para continuar con exceso de peso o alteración de variables de composición corporal una vez tratada la patología. El estudio de la composición corporal en estas pacientes es un factor importante para la correcta prescripción dietética.

# Literatura citada

- Bakiner, O., Bozkirli, E., Duygu, E., & Ozsahin, K. (2013). Correction of hypothyroidism seems to have no effect on body fat. *International Journal of Endocrinology*, 2013, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2013/576794>
- Bourges, H., Casanueva, E., & Rosado, J. L. (2009). *Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana: Bases fisiológicas* (1a edición). México, D.F.: Editorial Médica Panamericana.
- Brent, G. A., & Weetman, A. P. (2016). Hipotiroidismo y tiroiditis. En *Williams Tratado de Endocrinología* (13a ed., pp. 416–448). Barcelona: Elsevier.
- Brown, J. E. (2014). *Nutrición en las diferentes etapas de la vida*. (J. De León, Ed.) (5°). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Fosbøl, M. O., & Zerahn, B. (2015, marzo 1). Contemporary methods of body composition measurement. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/cpf.12152>
- Hernández, A. (2016). Hipotiroidismo en el adulto. En A. Y. Dorantes, C. Martínez, & A. Ulloa (Eds.), *Endocrinología Clínica de Dorantes y Martínez* (5a ed., pp. 126–134). México: El Manual Moderno.
- Hollowell, J. G., Staehling, N. W., Flanders, D., Hannon, H., Gunter, E., Spencer, C. A., & Braverman, L. E. (2002). Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(2), 489–499. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.2.8182>
- Jensen, B., Moritoyo, T., Kaufer, M., Peine, S., Norman, K., Maisch, M. J., ... Bosy, A. (2018). Ethnic differences in fat and muscle mass and their implication for interpretation of bioelectrical impedance vector analysis. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 1–8. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0276>
- Mcaninch, E. A., & Bianco, A. C. (2014). Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1311(1), 77–87. <https://doi.org/10.1111/nyas.12374>

- Mullur, R., Liu, Y. Y., & Brent, G. A. (2014). Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiological Reviews*, *94*(2), 355–382. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2013>
- OMS. (2015). *Ingesta de azúcares para adultos y niños*. Suiza.
- Peterson, S. J., McAninch, E. A., & Bianco, A. C. (2016). Is a normal TSH synonymous with “euthyroidism” in levothyroxine monotherapy? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *101*(12), 4964–4973. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2660>
- Robles, M. L., Zacarías, V., García, P., Hernández, H. L., Solís, J. C., & Sabath, E. (2014). Prevalence of thyroid function test abnormalities and anti-thyroid antibodies in an open population in Central México. *Revista de investigación clínica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutrición*, *66*(2), 113–120.
- Sánchez, L. M., Barquera, S., Campos, I., García, E., Arellano, S., González, A., ... Flores, M. (2012). *Concentraciones séricas de hormona estimulante de la tiroides (TSH) en niños, adolescentes y adultos mexicanos Resultados de la ENSANUT 2006* (1a ed.). México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Seppel, T., Kosel, A., & Schlaghecke, R. (1997). Bioelectrical impedance assessment of body composition in thyroid disease. *European journal of endocrinology*, *136*(5), 493–498.
- Splett, P. L. (2014). Nutrición en adultos. En *Nutrición en las diferentes etapas de la vida* (5va., pp. 407–427). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Takeda, K., Mishiba, M., Sugiura, H., Nakajima, A., Kohama, M., & Hiramatsu, S. (2009). Evaluated reference intervals for serum free thyroxine and thyrotropin using the conventional outlier rejection test without regard to presence of thyroid antibodies and prevalence of thyroid dysfunction in Japanese subjects. *Endocrine journal*, *56*(9), 1059–1066. <https://doi.org/10.1507/endocrj.k09e-123>
- Vanderpump, M. P., Tunbridge, W. M., French, J. M., Appleton, D., Bates, D., Clark, F., ... Tunbridge, F. (1995). The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clinical endocrinology*, *43*(1), 55–68.

# Evaluación de Marcadores de Inflamación y Sistemas Antioxidantes en Saliva de Lactantes y Leche Materna

**Méndez-Rojas, B.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**Ramos-Gómez, M.**

Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos.  
Facultad de Química. UAQ.

**González-Tello, MM.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**García-Solís, P.**

Departamento de Investigación Biomédica.  
Facultad de Medicina. UAQ.

**Solís-Sáinz, JC.**

Departamento de Investigación Biomédica.  
Facultad de Medicina. UAQ.

**Rosado-Loria, JL.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**Chávez Alabat, F.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**Chávez-Servín, JL.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**De la Torre-Carbot, K.**

Maestría en Nutrición Clínica Integral.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

La leche humana es un fluido complejo y dinámico secretado por la glándula mamaria, provee nutrición y protección para el desarrollo del lactante, se digiere con facilidad, es altamente accesible y de bajo costo. Otra de sus características es la abundante cantidad de factores bioactivos. (Hassiotou & Geddes, 2015; de la Torre & Chávez-Servín, 2017; Dawod et al., 2019).

La susceptibilidad de los neonatos a las enfermedades infecciosas es una consecuencia directa de la difícil adaptación inmunológica durante el periodo de transición del ambiente intrauterino al extrauterino. La ontogenia del sistema inmunológico (SI) comienza desde el embrión y se completa años después del nacimiento (Chirico et al., 2008; Gregory & Walker, 2013).

La leche materna (LM) además de nutrir se encarga de mantener el vínculo inmunológico materno-fetal y favorece la transmisión de la inmunocompetencia de la madre al bebé contribuyendo al sistema de defensa neonatal durante un periodo de tiempo delicado y crucial para el desarrollo inmunológico, considerándola como la primera vacuna del lactante al brindar inmunidad pasiva (Chirico et al., 2008; Andreas et al., 2016).

El objetivo de presente estudio es evaluar los marcadores de inflamación y sistemas antioxidantes en saliva de lactantes y leche materna

# Metodología

**Diseño del estudio:** Estudios observacional, transversal, descriptivo y comparativo.

**Definición del universo:** El reclutamiento y recolección de muestras de saliva y leche se llevó a cabo en el Centro de Salud Satélite de la SESEQ y Expo bebé y niños ediciones 24 y 25 llevada a cabo en el centro de congresos de la ciudad de Querétaro, tras la invitación a participar, aceptación voluntaria y firma de consentimiento informado de las mujeres participantes. Todos los procedimientos se llevaron a cabo con base a los lineamientos éticos establecidos por el comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales.

Los grupos comprendidos por las madres y los lactantes fueron:

- Grupo 1: Lactantes alimentados con LM (n=20)
- Grupo 2: Lactantes alimentados con lactancia mixta: fórmula infantil (FI) + lactancia (n=8) Las muestras de leche se dividieron en:
  - LM (n=20).
  - FI (n=8).

Se incluyeron en el estudio madres de 19 años en adelante con lactantes de 2 a 6 meses de edad que no hubieran comenzado con la alimentación complementaria, binomio ma-

dre-hijo sanos y mujeres que dieron su consentimiento para entrar en el estudio.

Se considero criterio de exclusión por parte de la madre: la presencia de diabetes gestacional o alguna enfermedad hipertensiva durante el embarazo, el consumo de medicamentos en los últimos 7 días, haber cursado con toxicomanías durante embarazo o lactancia o la presencia de enfermedades infecciosas al momento del estudio. Para el lactante se consideró criterio de exclusión: que se encontrara tomando medicamentos o los hubiera tomado en los últimos 7 días, haber recibido alguna vacuna en los últimos 7 días, la presencia de alguna enfermedad infecciosa o crónica y la presencia de fiebre al momento de la evaluación.

Las variables medidas en saliva y LM fueron: glutatión reducido (GSH), glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y capacidad antioxidante total por medio de las pruebas FRAP y DPPH. En FI se realizó la medición de la capacidad antioxidante total por medio de las pruebas ya mencionadas.

## Resultados y Discusión

La concentración de GSH fue mayor en la saliva del grupo FI + mixta en comparación con la concentración medida en la saliva de los lactantes alimentados con LM ( $p = 0.002$ ). En la figura 1 se puede observar la comparación en concentración de GSH mediante gráficas de cajas.

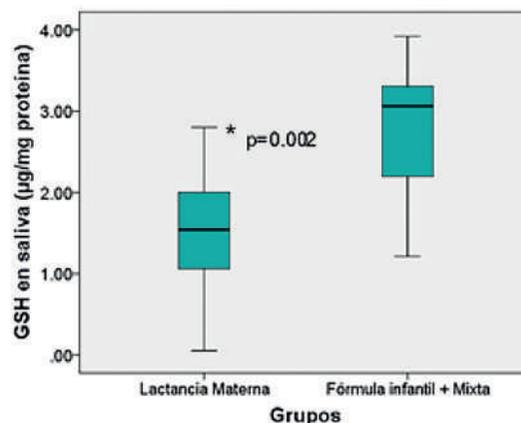


Figura 1. Concentración de GSH en saliva de lactantes de acuerdo con el tipo de lactancia ( $p = 0.002$ ).

La saliva del grupo de FI + mixta mostró mayor actividad de CAT y GPx en comparación con la actividad enzimática observada en el grupo de lactantes alimentados con LM, con una diferencia significativa en el caso de GPx ( $p = 0.005$ ). Para el caso de CAT, el valor fue de  $p = 0.062$ . La figura 2 muestra la actividad enzimática en saliva de la CAT y la GPx.

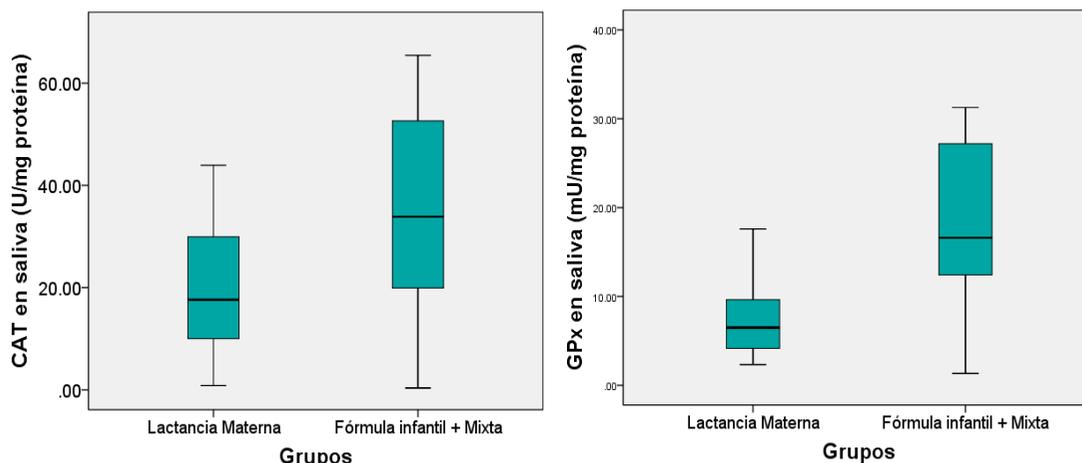


Figura 2. Actividad de las enzimas CAT y GPx en saliva (A) Actividad enzimática de CAT. (B) Actividad enzimática de GPx ( $p = 0.005$ ).

La concentración mayor de GSH y la actividad aumentada de GPx en el grupo 2, puede deberse a un mecanismo compensatorio secundario a una mayor defensa para evitar condiciones de estrés oxidativo (EO) o una elevación no deseable de agentes oxidantes.

De hecho, aunque hay pocos estudios en lactantes, existen algunos estudios en niños y adultos que indican que una mayor concentración o actividad de sistemas antioxidantes puede ser indicativo de una alta demanda de sistemas de defensa originada por alteraciones metabólicas que ponen en riesgo la homeosta-

sis del organismo (Da Silva et al., 2016; Arana et al., 2017; Nair & Nair, 2017).

La hipótesis planteada acerca del comportamiento compensatorio de los sistemas antioxidantes medidos en saliva, puede sustentarse tomando en consideración las concentraciones más altas de marcadores de inflamación en las muestras de saliva del grupo 2. Dado que la inflamación y el EO se encuentran estrechamente vinculados y el aumento de uno desencadena la respuesta del otro. A continuación, en la figura 3 se muestran las gráficas de cajas correspondientes.

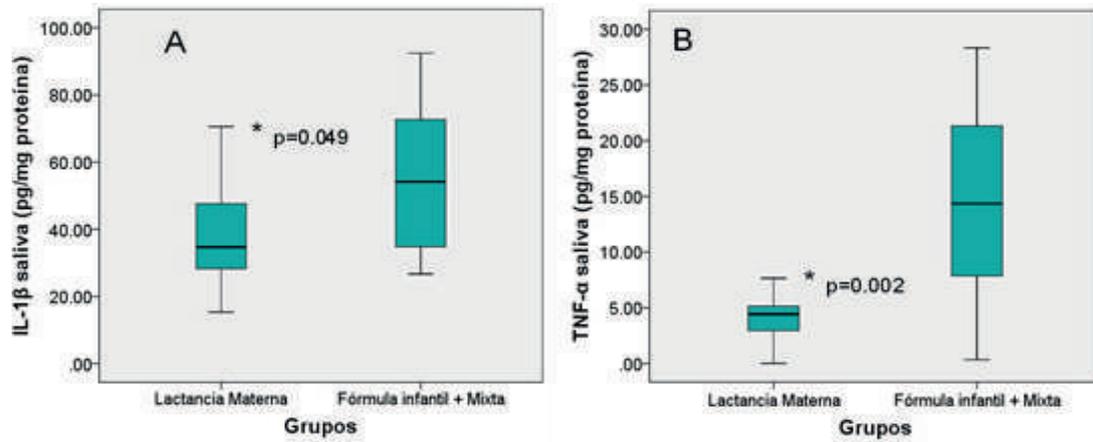


Figura 3. Marcadores de inflamación medidos en saliva. (A) IL-1 $\beta$  con una  $p = 0.049$ . (B) TNF- $\alpha$ ,  $p = 0.002$ . Las pruebas de capacidad antioxidante no mostraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar el porcentaje de inhibición (% de inhibición) en las muestras de saliva de ambos grupos de estudio.

En relación con los sistemas antioxidantes y marcadores de inflamación en la LM, así como la capacidad antioxidante total, los resultados obtenidos se muestran a continuación en la Cuadro 1.

Cuadro 1. Sistemas antioxidantes, marcadores de inflamación y capacidad antioxidante en LM.

	LM (n=20)	FI (n=8)	p
<b>Sistemas antioxidantes</b>			
GSH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ proteína)	0.011 $\pm$ 0.002	NA	-
GPx (mU/mg proteína)	0.079 $\pm$ 0.013	NA	-
CAT (U/mg proteína)	0.282 $\pm$ 0.035	NA	-
<b>Marcadores de inflamación</b>			
IL-1 $\beta$ (pg/mg proteína)	0.53 $\pm$ 0.04	NA	-
TNF- $\alpha$ (pg/mg proteína)	0.47 $\pm$ 0.04	NA	-
<b>Capacidad antioxidante</b>			
DPPH (% inhibición)	14.01 $\pm$ 1.60	ND	NA
FRAP (% inhibición)	60.99 $\pm$ 2.56	37.42 $\pm$ 12.40	0.179

NA: no aplica. ND: no detectable. Datos expresados como media  $\pm$  error estándar. Prueba T-student.

En nuestro estudio la actividad de la GPx es menor al compararlos con los resultados de actividad enzimática de GPx de L'Abbe et al. (2000), lo cual puede ser secundario a las condiciones de almacenamiento de las muestras como han observado previamente otros investigadores (Ankrah et al., 2000; Xavier et al., 2011).

Algunos investigadores han medido las concentraciones de citocinas en LM, las cuales pueden ser importantes en la estimulación del SI del lactante (Riskin et al., 2012; Freitas et al., 2019), estas concentraciones se han medido en diferentes etapas de lactancia.

La capacidad antioxidante total medida por medio de FRAP en LM y FI no representó una diferencia estadísticamente significativa; sin embargo, la LM presentó una tendencia mayor en esta prueba. Investigadores como Ezaiki et al. (2008) y Oveisi et al. (2010), observaron que la LM proveía mejor capacidad antioxidante que la FI. Por lo cual el uso temprano de la LM se considera extremadamente importante y útil en la protección del lactante contra el EO.

## Conclusiones

Los niveles elevados de sistemas antioxidantes (GSH y GPx) y marcadores de inflamación (IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ ) en saliva de lactantes que reciben FI, ya sea de manera exclusiva o mixta, parecen estar relacionados con una respuesta compensatoria del organismo ante un posible incremento de ERO. Este fenómeno ha sido observado en múltiples estudios realizados en adultos.

La capacidad antioxidante de la leche materna en comparación con la FI no mostró diferencias significativas, aún así, la LM tuvo una tendencia mayor de capacidad antioxidante al analizarla con el ensayo de FRAP. La capacidad antioxidante de la FI no pudo detectarse al utilizar el ensayo DPPH.

Estos resultados señalan que la LM es el alimento ideal para el desarrollo del lactante, ya que es capaz de brindar los elementos necesarios no solo para el crecimiento sino para la protección de éste y es un fluido capaz de adaptarse a las necesidades específicas del bebé aún cuando no se brinde de manera exclusiva.

## Literatura citada

- Andreas, N. J., Kampmann, B., & Le-doare, K. M. (2016). Early Human Development Human breast milk : A review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*, 91(11), 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
- Ankrah, N. A., Appiah-Opong, R., & Dzokoto, C. (2000). Human breastmilk storage and the glutathione content. *Journal of Tropical Pediatrics*, 46(2), 111–113. <https://doi.org/10.1093/tropej/46.2.111>
- Arana, C., Moreno-Fernández, A. M., Gómez-Moreno, G., Morales-Portillo, C., Serrano-Olmedo, I., de la Cuesta Mayor, M. C., & Martín Hernández, T. (2017). Increased salivary oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes: Relation with periodontal disease. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 64(5), 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.03.005>

- Chrigo, G., Marzollo, R., Cortinovis, S., Fonte, C., & Gasparoni, A. (2008). Antiinfective Properties of Human Milk. *The Journal of Nutrition*, 180(1)–180(6). <https://doi.org/10.1093/jn/138.9.1801S>
- Da Silva, P. V., Troiano, J. A., Nakamune, A. C. M. S., Pessan, J. P., & Antoniali, C. (2016). Increased activity of the antioxidants systems modulate the oxidative stress in saliva of toddlers with early childhood caries. *Archives of Oral Biology*, 70, 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.06.003>
- Dawod, B., Marshall, J. S., & Marshall, J. S. (2019). Cytokines and solublereceptors in breast milk as enhancers of oral tolerance development. *Frontiers in Immunology*, 10(JAN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00016>
- de la Torre, K. and Chávez-Servín, J. (2017). Fórmulas infantiles. In *Fórmulas Infantiles. Nutrición y Tecnología* (Vol.1, Issue Fórmulas, pp. 230–280). [https://scp.com.co/precop-old/precop\\_files/modulo\\_8\\_vin\\_4/Formulas\\_Infantiles.pdf](https://scp.com.co/precop-old/precop_files/modulo_8_vin_4/Formulas_Infantiles.pdf)
- Ezaki, S., Ito, T., Suzuki, K., & Tamura, M. (2008). Association between total antioxidant capacity in breast milk and postnatal age in days in premature infants. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 42(2), 133–137. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.2008019>
- Freitas, N. A. de, Santiago, L. T. C., Kurokawa, C. S., Meira Junior, J. D. de, Corrente, J. E., & Rugolo, L. M. S. de S. (2019). Effect of pre-eclampsia on human milk cytokine levels. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 32(13), 2209–2213. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1429395>
- Gregory, K. E., & Walker, W. A. (2013). Immunologic Factors in Human Milk and Disease Prevention in the Preterm Infant. *Current Pediatrics Reports*, 1(4), 222–228. <https://doi.org/10.1007/s40124-013-0028-2>
- Hassiotou, F., & Geddes, D. T. (2015). Immune Cell-Mediated Protection of the Mammary Gland and the Infant during Breastfeeding. *American Society for Nutrition*, 6, 267–275. <https://doi.org/10.3945/an.114.007377>
- L'Abbe, M. R., & Friel, J. K. (2000). Superoxide dismutase and glutathione peroxidase content of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 31(3), 270–274. <https://doi.org/10.1097/00005176-200009000-00013>
- Nair, A., & Nair, B. J. (2017). Alteration of cellular metabolism in cancer cells and its therapeutic. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21(3), 394–401. <https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP>
- Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Jannat, B., Hajimamoodi, M., Behfar, A. ol A., Jannat, F., & Nasab, F. M. (2010). Human breast milk provides better antioxidant capacity than infant formula. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4), 445–449. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.912>
- Riskin, A., Almog, M., Peri, R., Halasz, K., Srugo, I., & Kessel, A. (2012). Changes in immunomodulatory constituents of human milk in response to active infection in the nursing infant. *Pediatric Research*, 71(2), 220–225. <https://doi.org/10.1038/pr.2011.34>
- Xavier, A. M., Rai, K., & Hegde, A. M. (2011). Total antioxidant concentrations of breastmilk—an eye-opener to the negligent. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 29(6), 605–611.

# Elaboración de protocolos de propagación de plantas con valor socio-ecológico del Área Natural Protegida El Batán, en la microcuenca Joaquín Herrera, Corregidora, Qro.

*Uribe-Bernal M.*

*Osorno-Sánchez T. G.*

*Hernández-Sandoval L. G.*

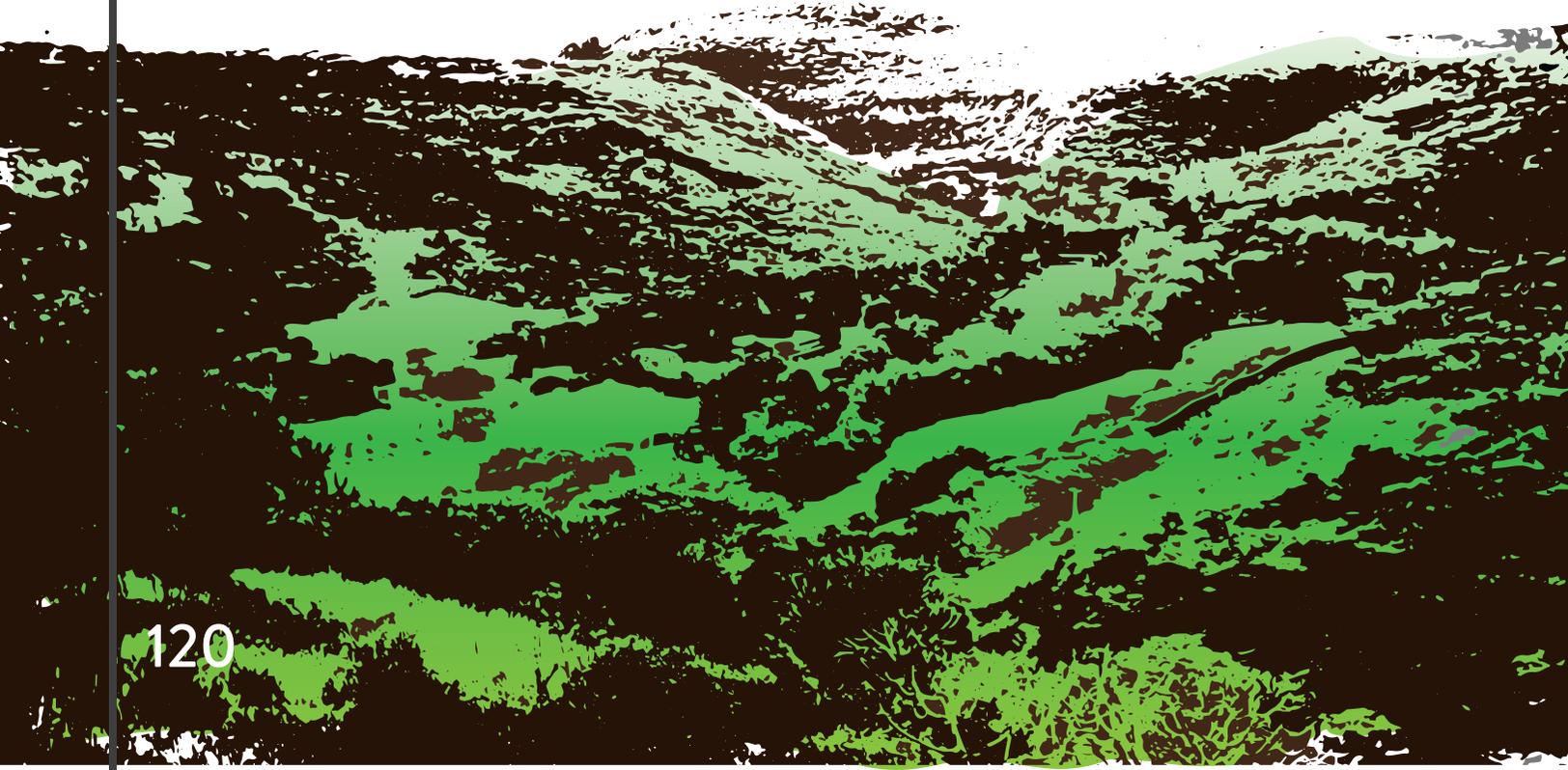
*Hernández-Guerrero J. A.*

Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.  
Maestría en Gestión Integrada de Cuencas

*Mendoza-Hernández P. E.*

*Serrano-Sánchez A.*

Facultad de Ciencias. UNAM.  
Maestría en Gestión Integrada de Cuencas



# Introducción

Al menos el 50 % del polígono total del área natural protegida, El Batán, se encuentra en la microcuenca Joaquín Herrera. Aunque no existen asentamientos humanos dentro del polígono se han registrado 31 localidades, tanto rurales como urbanas, que se encuentran aproximadamente a 1 km de distancia del límite del área decretada como ANP. Del área total del ANP correspondiente a la microcuenca Joaquín Herrera, 60.3 % pertenece a la zona núcleo y el resto (39.7 %) a zona de amortiguamiento, la cual se subdivide en actividades como aprovechamiento sustentable de los recursos naturales (14.8 %), aprovechamiento sustentable de agrosistemas (24.4 %) y zonas de uso público (0.7 %) (SEDESU, 2015). Además de la reserva ecológica el Batán el parque nacional de El Cimatariocuenta con una mínima distribución en el municipio de Corregidora 3.66 % (88 ha); sin embargo, la importancia de ambas radica en su función como un cinturón que sirve como corredor biológico para preservar la biodiversidad biológica, debido a que las áreas verdes en el municipio de Corregidora son escasas (POELMC, 2017).

La coexistencia de seres humanos y otras especies es habitual alrededor de todo el planeta, por lo tanto, no es de extrañar que en las cuencas, en este caso microcuencas, exista de igual forma una dinámica entre las sociedades y la naturaleza. Lo anterior, brinda una oportunidad para estudiar y conocer estas conexiones de las cuales obtenemos beneficios diariamente, por ejemplo, alimentos, medicinas y com-

bustible. El estudio en la microcuenca Joaquín Herrera brinda, convenientemente, los elementos para profundizar en estas relaciones. Por anteriormente planteado el objetivo del presente trabajo es desarrollar protocolos de propagación de las especies con importancia socio-ecológica en la microcuenca. Lo anterior pretende ser un paso hacia el mejor entendimiento de la composición de la vegetación y su importancia biocultural. Por otra parte, por medio de la generación de conocimiento de la propagación de las especies se pretende crear técnicas y herramientas para prevenir riesgos por la pérdida de vegetación como la inestabilidad de laderas, erosión, incendios forestales, pérdida de infiltración, aumento de la temperatura, entre otras. Actualmente, esta microcuenca es relevante en el municipio de Corregidora debido al porcentaje considerable de vegetación natural con un mínimo estado de perturbación.

A continuación, se describe brevemente una semblanza de sus características físicas, biológicas y sociales. La microcuenca Joaquín Herrera está localizada en el municipio de Corregidora, en el estado de Querétaro, con una latitud norte 352837.4879 y 348572.04, y longitud oeste entre 2269928.709 y 2263048.4816 de coordenadas UTM, tiene una superficie total de 2782.2 ha (Figura 1), colinda al norte con la localidad de Santa Bárbara, Praderas de la Negreta y Colinas del Bosque II, mientras que al noroeste se ubica la presa El Batán, hacia el este se encuentra la localidad El Ranchito, al sur Charco blanco, al sureste la localidad más cercana es El Salto de espejito al oeste colinda con el estado de Guanajuato.

La zona tiene una geología diversa, aunque las rocas se distribuyen en la zona son principalmente de tipo basalto y andesita, acompañado por algunas formaciones rocosas de toba ácida. El tipo de suelo predominante en el área es el Vertisol pélico representado principalmente en la zona norte, noroeste, oeste y suroeste. En segundo término, se encuentra el suelo tipo Litosol el cual se observa hacia el norte, noroeste, este y sureste (INEGI, 2004,

POELC, 2016). Se han registrado en el sitio tres tipos de clima, de mayor a menor proporción, están clasificados como templado subhúmedo, el segundo tipo de clima descrito es el semiseco semicálido y el tercer tipo de clima es el semiseco templado. Dichos tipos de clima resaltan por poseer una temporada de lluvias definida, principalmente durante el verano (INEGI, 2006).

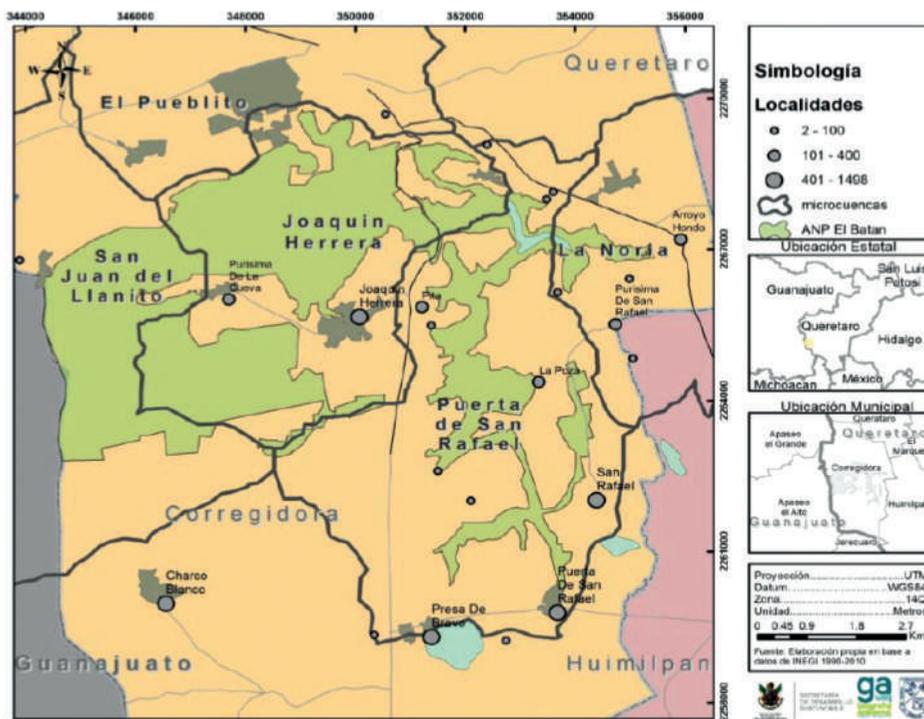


Figura 1. Área de estudio, microcuenca Joaquín Herrera. odificado de SEDESU, 2015.

En el área se presentan diversos tipos de vegetación como bosque tropical caducifolio, matorral crasicaule y vegetación riparia. Cabe señalar que durante el desarrollo del estudio técnicojustificativo para la declaratoria de El Batán como área natural protegida (2011) se documentaron 49 especies de flora, de las cuales, dos se encuentran bajo la categoría amenazada

según la NOM- 059-SEMARNAT-2010, una de ellas es *Erythrina coralloides* (Colorín) y la otra es *Hesperalbizia occidentalis* (Palo blanco). De las 62 especies de fauna documentadas para la microcuenca Joaquín Herrera una pertenece al grupo de los crustáceos, tres son especies de peces, 13 son anfibios y reptiles, 24 son aves y 21 son mamíferos. La existencia de una pre-

sa, aunque no dentro de la zona de estudio, así como la presencia de cañadas sirven como hábitat y refugio a estas especies.

## Metodología

El desarrollo del proyecto fue propuesto en tres etapas, con la finalidad de tener una mejor contextualización del trabajo que se estaba realizando. Las etapas planteadas fueron: 1) definición de las especies vegetales con valor ecológico, 2) definición de especies vegetales con valor social y 3) determinación y propagación de las especies vegetales con valor socioecológico alto. El resultado de estas tres etapas culminó en la elaboración de protocolos de propagación de las especies con un papel biocultural importante de la vegetación de la microcuenca Joaquín Herrera

Para determinar las especies con valor de importancia alto se calculó el área mínima de muestreo, por tipo de vegetación (selva baja caducifolia y matorral crasicaule) por medio de la metodología “curva de especies-área” propuesta por Ferro (2015). A través del cálculo de desviación estándar se determinó el número total de cuadrantes a muestrear y la eficiencia de muestreo se determinó por medio del cálculo del error estándar (Flores y Álvarez, 2011), el resultado obtenido fue de tres cuadrantes por tipo de vegetación. El muestreo de vegetación consistió en la recopilación de datos de sométricos a árboles y arbustos con una altura superior a los 25 cm de altura y un diámetro a la altura del pecho (DAP) mayor a 7.5 cm (Campo

y Duval, 2014; SEDEA, 2015). Finalmente, con los datos obtenidos se calculó por especie la frecuencia, dominancia y densidad, variables necesarias para el cálculo del índice de valor de importancia ecológica según lo propuesto por MacIntosh (1985).

Posterior a obtener el valor de importancia ecológica de las especies de los cuadrantes previamente muestreados se determinó, por medio de encuestas semiestructuradas a actores clave de la microcuenca, el índice de valor de uso ( $I_{ue}$ ) propuesto por Alvis (2009); Aguilar y Castillo (2007) y Campo y Duval, (2014). Dicho índice consiste en categorizar la importancia biocultural que tienen las especies de flora con base en la diversidad de usos determinados por las personas encuestadas.

Obtenidos estos dos valores se seleccionaron cinco especies pertenecientes a selva baja caducifolia y cinco de matorral crasicaule con los valores más altos, las cuales se determinaron como las especies socioecológicamente importantes de la microcuenca. De las cuales se elaboró su protocolo de propagación. Para la elaboración de los protocolos de propagación se compararon métodos que aumentaran el porcentaje y uniformizaran el periodo de germinación al final se eligió el que dio los mejores resultados (Espitia *et al.*, 2017; Ffolliot y Thames, 1983).

## Resultados y discusión

Se identificaron 19 especies en la selva baja caducifolia (SBC) muestreada y 11 en el matorral

crasicaule (MC), en total suman 10 familias botánicas presentes en la zona de muestreo. Las especies más frecuentes para el tipo de vegetación SBC fueron *Lysiloma microphyllum*, *Bursera fagaroides*, *Karwinskia humboldtiana*, *Diphysa suberosa*, *Forestiera phillyreoides* y *Myrtillocactus geometrizans*. El diámetro a la altura del pecho promedio de las especies más frecuentes fue de 42.77, 43.72, 21.26, 21.96, 30.41 y 36.8 cm mientras que la altura promedio de las especies fue de 4.65, 3.16, 2.34, 2.03, 2.64 y 2.05 mts, por otro lado, la cobertura promedio calculada por especie fue de 20.49, 5.33, 3.37, 2.63, 2.29 y 5.22 m<sup>2</sup> respectivamente. En cambio, en el MC las especies más frecuentes fueron *Zaluzania augusta*, *Calliandra eriophylla*, *Mimosa monacrista*, *Acacia farnesiana*, *Ipomoea murucoides* y *Acacia schaffneri*. La altura promedio de las especies más frecuentes fue de 1.22, 0.60, 1.52, 1.57, 3.27 y 1.99 mts., mientras que su cobertura promedio fue de 3.47, 0.93, 5.96, 4.77, 21.37 y 8.40 m<sup>2</sup> respectivamente. Derivado del desarrollo de la ecuación de valor de importancia, las especies que resultaron con los valores más altos, de mayor a menor, fueron *Lysiloma microphyllum*,

*Bursera fagaroides*, *Karwinskia humboldtiana*, *Forestiera phillyreoides*, *Myrtillocactus geometrizans* y *Diphysa suberosa*, pertenecientes a la SBC. Mientras que, *Zaluzania augusta*, *Ipomoea murucoides*, *Mimosa monacrista*, *Calliandra eriophylla*, *Acacia farnesiana* y *Acacia schaffneri* fueron las especies concernientes al MC.

Las especies obtenidas con altos valores en ambos índices, ecológico y social, fueron para el tipo de vegetación selva baja caducifolia *Lysiloma microphyllum* (Guaje), *Myrtillocactus geometrizans* (Garambullo), *Bursera fagaroides* (Palo xixote), *Forestiera phillyreoides* y *Diphysa suberosa* (Palosanto). Mientras que las especies *Ipomoea murucoides* (Palo bobo), *Acacia farnesiana* (Mezquite), *Acacia schaffneri* (Mezquite chino) y *Mimosa monacrista* (Uña de gato) fueron las resultantes del tipo de vegetación matorral crasicaule. Los tratamientos elegidos consistieron en la disminución del tiempo de imbibición con agua de la semilla, como proceso fundamental para la activación de los procesos que dan lugar a la germinación (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Tratamientos pre germinativos a las especies con importancia socio-ecológica**

ESPECIE / TRATAMIENTO	CONTROL	ABRASIVO	REMOJO EN AGUA	BURBUJEO EN AGUA
<i>Lysiloma microphyllum</i>	X	X	X	
<i>Myrtillocactus geometrizans</i>	X	X	X	
<i>Bursera fagaroides</i>	X		X	X
<i>Dyphisa suberosa</i>	X	X		
<i>Forestiera phillyreoides</i>	X	X		
<i>Ipomoea murucoides</i>	X	X		
<i>Acacia farnesiana</i>	X	X		
<i>Acacia schaffneri</i>	X	X		
<i>Mimosa monancistra</i>	X	X	X	

Durante los 25 días que se monitoreo la germinación se contaron el número de semillas emergidas lo cual dio como resultado curvas de germinación por especie. Lo anterior permitió constatar que en la mayoría de los casos los tratamientos pregerminativos cumplieron su función al compararlos con el tratamiento control, las excepciones fueron en las especies *Lysiloma microphyllum* y *Dyphisa suberosa* las cuales no presentaron diferencias significativas respecto al control.

## Conclusiones

A pesar de obtener óptimos resultados de germinación, superiores al 50 % en todas las especies, no se logró obtener la cantidad suficiente de semillas para comparar entre los tres pretratamientos propuestos por lo cual, se sugiere más adelante hacer las comparaciones entre los pretratamientos faltantes.

Por otra parte, se sugiere seguir muestreando la vegetación del área para constatar la importancia de las especies encontradas en las microcuencas circundantes a las del área de estudio. A pesar de encontrarse en condiciones de poca perturbación la zona alta de la microcuenca, a razón de solo el muestreo de una especie asociada a la perturbación, *Karwinskia*

*humboldtiana*, se sugiere prestar atención a las actividades que principalmente se observaron causan estos disturbios, por ejemplo, el pastoreo de ganado.

A pesar de que en el presente trabajo solo se muestreo vegetación arbórea y arbustiva, se reconoce la importancia de preservar la diversidad de formas de vida en la conservación de ecosistemas, por lo cual se considera importante implementar este tipo de metodologías para la propagación de herbáceas. Las plantas herbáceas también han demostrado ser un elemento importante en la cultura de las comu-

nidades al presentar una amplia diversidad de usos y beneficios por lo cual su conservación también debe ser una prioridad.

Finalmente, como uno de los ejes centrales de este proyecto, se consideró la participación ciudadana de los habitantes de la microcuenca, sin embargo no se obtuvo la respuesta esperada a la convocatoria hecha para participar en el presente proyecto lo cual requiere de modificaciones en la estrategia de vinculación con los habitantes de dicha zona para fortalecer los futuros programas de conservación y restauración del área natural protegida El Batán y sus alrededores.

## Literatura citada

Alvis J.F. (2009). Análisis estructural de un bosque natural localizado en zona rural del municipio de Popayan.

*Biología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1): 115-122. Recuperado de <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biologia/article/view/710>

Andrade, A. (2009). Ethnobotanical study of the medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *Journal of Ethnopharmacology* 122(1), 163–171. doi:10.1016/j.jep.2008.12.008

Arias, D., Dorado, O. y Maldonado, B. (2002). Biodiversidad e importancia de la selva baja caducifolia: La reserva de la biosfera de la Sierra de Huautla. CONABIO. *Biodiversitas* (45): 7 - 12.

Estrada, E., Garza, M. y Villarreal, J.Á. (2014). Ethnobotany in Rayones, Nuevo León, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 10(62). doi.org/10.1186/1746-4269-10-62

Estrada, E., Villarreal, J.Á. y Rodríguez, M.M. (2018). Ethnobotanical Survey of Useful Species in Bustamante, Nuevo León, Mexico. *Human Ecology* 46, 117–132. doi.org/10.1007/s10745-017-9962-x

Ferro, J. (2015). Manual revisado de métodos útiles en el muestreo y análisis de la vegetación. *ECOVIDA* (5):1 139-186.

Ffolliot, P. F. y Thames, J. L. (1983). Collection, handling, storage and pre-treatment of Prosopis seeds in Latin America. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 143 p.

- INEGI, 2003. Mapa Digital de México. Representación de recursos naturales y culturales del territorio nacional a escala 1:250000, basado en imágenes de satélite del 2002 y trabajo de campo realizado en 2003.
- INEGI, 2004. Guía para la interpretación de la cartografía edafológica. Extraído de la página <http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/INTERNET/EdafIII.pdf>
- INEGI, 2006. Características edafológicas, fisiográficas, climáticas e hidrográficas de México. Extraído de la página [http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/INTERNET/1-GEOGRAFIADEMEXICO/MANUAL\\_CARAC\\_EDA\\_FIS\\_VS\\_ENERO\\_29\\_2008.pdf](http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/INTERNET/1-GEOGRAFIADEMEXICO/MANUAL_CARAC_EDA_FIS_VS_ENERO_29_2008.pdf)
- INEGI, 2013. Guía para la interpretación de Cartografía. Uso de suelo y vegetación. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, Ags. México.
- Programa Municipal de Desarrollo Urbano Corregidora (PMDU) (2014). Secretaría de Desarrollo y Obras Públicas del Municipio de corregidora.
- Programa de Ordenamiento Ecológico Local del Municipio de Corregidora, Qro (POELMC). (2016). Secretaría de Movilidad, Desarrollo urbano y Ecología del Municipio de Corregidora. Disponible en: [http://www.corregidora.gob.mx/Documentos/20152018/sedesu/POELMC\\_2016.pdf](http://www.corregidora.gob.mx/Documentos/20152018/sedesu/POELMC_2016.pdf)
- Secretaría de Desarrollo Sustentable del Estado de Querétaro (SEDESU). (2015). Plan de manejo de la zona de reserva ecológica el Batán. México. 121 pp.
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2018). ¿Cómo saber que tan viable es una semilla?. Gobierno de México. Recuperado de <https://www.gob.mx/snics/es/articulos/como-saber-que-tan-viable-es-una-semilla?idiom=es>
- Silva, G. L., Lima, H. V., Campanha, M. M., Gilkes, R. J. y Oliveira, T. S. (2011). Soil physical quality of Luvisols under agroforestry, natural vegetation and conventional crop management systems in the Brazilian semi-arid region. *Geoderma* 167(168): 61-70.
- Stenhouse, R. N. (2004). Fragmentation and internal disturbance of native vegetation reserves in the Perth metropolitan area, Western Australia. *Landscape and Urban Planning* (68), 389–401. doi:10.1016/S0169-2046(03)00151-8
- Vanegas, M. (2016). Manual de mejores prácticas de restauración de ecosistemas degradados, utilizando para reforestación solo especies nativas en zonas prioritarias. Informe final dentro del proyecto GEF 00089333 “Aumentar las capacidades de México para manejar especies exóticas invasoras a través de la implementación de la Estrategia Nacional de Especies Invasoras”. CONAFOR, CONABIO, GEF-PNUD. México. 158 p.
- Vargas, O. y Pérez, L. V. (Eds.). (2014). Semillas de plantas de páramo: Ecología y métodos de germinación aplicados a la restauración ecológica. Grupo de Restauración Ecológica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 176 pp.

# Procesos de purificación de la proteína quimérica CHPV1.9 de *Babesia bigemina*.

**Mejía-López, A. S.**

Laboratorio de inmunología, Doctorado en ciencias biológicas, campus aeropuerto, Universidad Autónoma de Querétaro

**Hernández-Silva, D. J.**

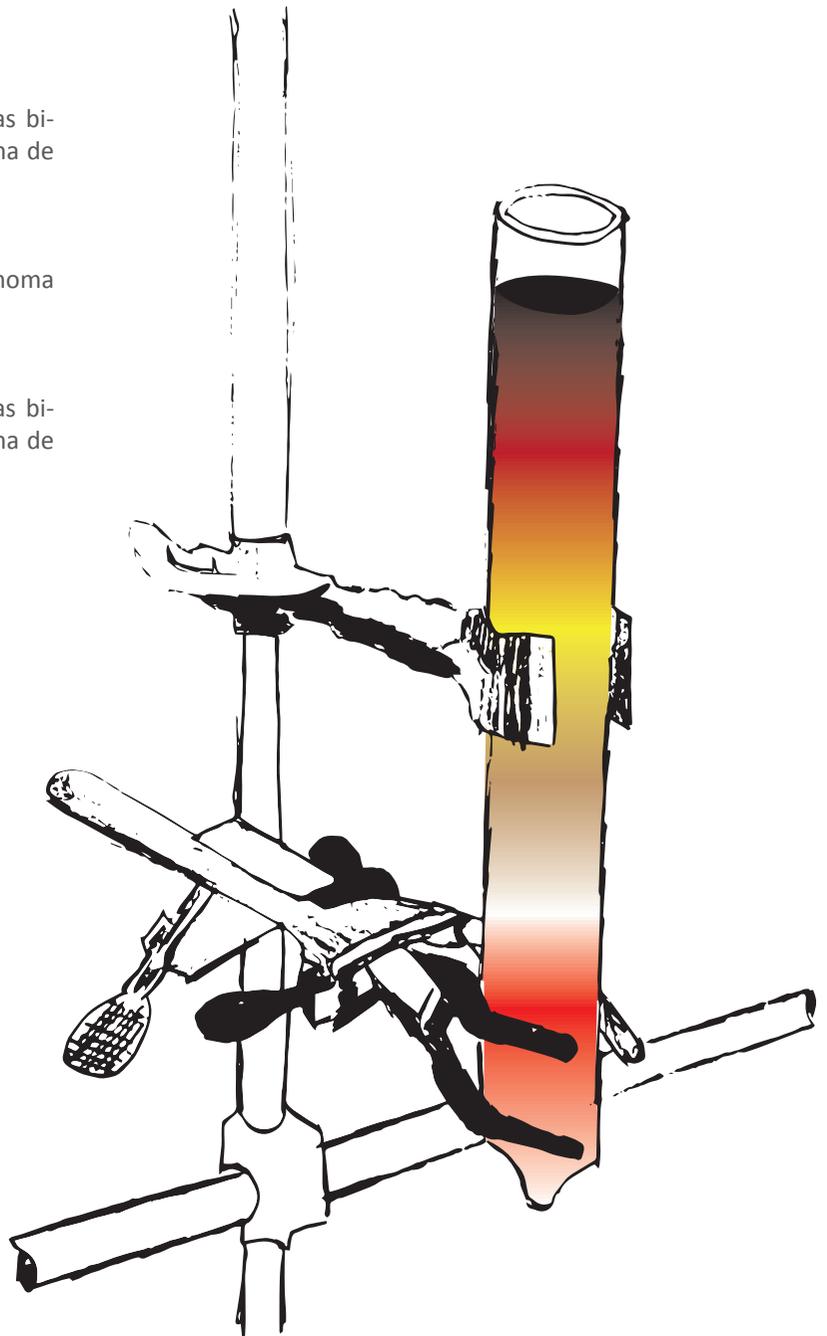
Laboratorio de inmunología, Doctorado en ciencias biológicas, campus aeropuerto, Universidad Autónoma de Querétaro

**Olivares-Trejo, J. J.**

Escuela de ciencias genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México

**Mosqueda, J. J.**

Laboratorio de inmunología, Doctorado en ciencias biológicas, campus aeropuerto, Universidad Autónoma de Querétaro



# Introducción

Babesia es un género de hemoparásitos causante de la babesiosis bovina, en México, es transmitida por garrapatas *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus*. En México, regiones tropicales y subtropicales, las especies de Babesia que causan la Babesiosis bovina son: *B. bigemina* y *B. bovis* (Schnittger et al., 2012). Ambas especies son endémicas de México. Como medida de protección y medida de control contra la Babesiosis bovina se han desarrollado diferentes estrategias de vacunación. Las vacunas que se emplean como medida preventiva contra la babesiosis, están hechas a partir de parásitos vivos atenuados de diferentes cepas de Babesia que han mostrado tener la capacidad de estimular el sistema inmunitario para la generación de respuesta inmune contra Babesia. Sin embargo, los costos de producción de estas vacunas son elevados así como su vida de anaquel (De wall y Combrink, 2006). Recientemente se ha propuesto el uso de vacunas recombinantes de las proteínas de superficie de Babesia, que contengan epítopos B y T conservados e inmunogénicos (Brown et al., 2006; Suarez & Noh, 2011; Mosqueda et al., 2012). Camacho-Nuez et al., (2017) y Hernández-Silva et al., (2018) identificaron y caracterizaron epítopos B de proteínas de *B. bigemina*. Los fueron evaluados mostrando en ensayos inmunológicos que los péptidos que generaron anticuerpos con actividad neutralizante se usaron para el desarrollo de una proteína quimérica llamada CHPV1.9.

CHPV1.9 se expresó en una cepa BL21 de *Escherichia coli*, y se demostró que la proteína

se encuentra en cuerpos de inclusión. En este trabajo se explicará a detalle diferentes métodos de purificación de CHPV1.9 con una pureza mayor al 95 %.

## Metodología

### Expresión de CHPV1.9

La expresión de la proteína CHPV1.9 se usó la clona 3 *Escherichia coli* cepa BL2, la cual está modificada con el gen *chpv1.9* (actualmente en proceso de patente). Para la producción de CHPV1.9 se usó un biorreactor con una torre de control (Biostat® A, Sartorius®), el cultivo se realizó en un tanque agitado de vidrio (UniVessel® Glass, Sartorius®), usando un pre-inóculo hecho con las mismas condiciones en apartado

Se agregaron 100 ml aproximadamente de pre-inóculo o hasta que la O.D fuera de 0.05 para iniciar el cultivo. El cultivo fue monitoreado aproximadamente cada 30 minutos, cuando el cultivo llegó a una O.D 400 nm se tomó una muestra pre-inducción y se administró 0.2 % de L-arabinosa, el cultivo se siguió monitoreando cada 30 minutos hasta llegar a una O.D >1.100 nm.

Posteriormente al término del cultivo se tomaron alícuotas de 150 ml, las muestras de cultivo se centrifugaron a 12000 xg por un minuto, se eliminó el sobrenadante y se guardó el pellet a -20 °C para un tratamiento de lisis mecánica y choque térmico.

## *Preparación de muestra para purificación de CHPV1.9*

El pellet de cultivo correspondiente a 150 ml de cultivo se resuspendió en 7 ml en buffer de lisis (Buffer lisis: 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 5 mM Protease Inhibitor Cocktail, EDTA-Free, pH 7.5), la muestra se sometió a 5 ciclos de congelamiento por un minuto y sonicación en hielo (1 min a 80 % de amplitud), para la ruptura de la pared bacteriana.

La muestra se centrifugo a 10000 xg por 10 minutos, el pellet se resuspendió 5 ml de buffer de lisis con 0.5% de Triton X-100 y se agitó durante 30 min a 4° C. Se centrifugo la muestra a 10000 xg por 10 minutos, y el pellet se resuspende en 3 ml de agua inyectable, este paso de realizo por otras tres veces. El pellet resultante se le da un tratamiento con 5 ml de DNAsas (10 µg/ml) en agua grado biología molecular para eliminar ADN, la muestra se dejó en agitación por 30 minutos a 4°C.

El pellet se resuspendió en 3 ml de agua grado molecular, se centrifugo a 10000 xg por 10 minutos. El pellet se resuspendió en buffer B para solubilizar los cuerpos de inclusión. (Buffer B: 8 M Urea; 100 mM de Fosfato de sodio bibásico; 20 mM Tris-base; 12 mM Imidazol, pH 8.3) hasta que el pellet se solubilize por completo y no se observen agregados. La muestra se filtró en un filtro de jeringa o pirinola 0.27 mm de diámetro con una membrana de 1.2 µm de poro PES (Polietersulfona, Corning®).

## *Purificación de CHPV1.9 por cromatografía de afinidad*

La purificación de la proteína se realizó por cromatografía de afinidad, usando columnas de níquel unidas a perlas de sefarosa (HisTrap™, High Performance GE Healthcare). Se eliminó el etanol de la columna con 10 ml de agua destilada estéril a un flujo de 30 gotas por minuto. Para la activación de la columna se usó de 3 a 5 ml de buffer B, se adicione la muestra previamente pre-filtrada, para la interacción de la resina con la muestra se dejó en agitación lenta en un homogenizador celular overnight (MACSmix Tube Rotator, MACSpress® Miltenyi biotec®).

Se elimino el sobrenadante que contiene las proteínas que no se unieron. Se adicione 3 ml de buffer C para eliminar proteína que se unieran de manera inespecífica (Buffer C: 6 M Urea; 100 mM de Fosfato de sodio dibásico; 20 mM Tris-base; 30 mM Imidazol, pH 8.3).

Para eluir las proteínas con cola de histidinas se usó el buffer D un ml (Buffer D: 4 M Urea; 100 mM de Fosfato de sodio dibásico; 20 mM Tris-base; 150 mM Imidazol, pH 8.3), se colectaron de 28 a 30 eluciones.

## *Diálisis, diafiltración y concentración de proteínas*

El proceso de diálisis se realizó usando un buffer de recambio (100 mM de Fosfato de sodio dibásico; 20 mM Tris-base; 150 mM Imidazol, con 10 % glicerol pH 8.3), se hicieron recambios

cada 3 horas de 0.5 M urea, hasta llegar a una concentración en la muestra de 0.5 M urea.

Para la eliminación del exceso de urea usando el método de diafiltración se emplearon unidades de filtración por centrifugación (30 kDa MWCO, VivaSpin® 4, Sartorius), para este protocolo se empleó un buffer con las mismas sales al buffer D en el cual está contenida la proteína, pero disminuyendo gradualmente la concentración de urea hasta llegar a concentraciones menores a

0.3 M de urea. Se confirmó la presencia de CHPV1.9 por electroforesis de SDS-PAGE, las muestras fueron guardadas a 4 °C.

### *On column refolding*

El replegamiento en columna en batch es un método usado para replegar la proteína y al mismo tiempo purificar la proteína por afinidad, sin usar otro método adicional. Se equilibró 2 ml de resina (Ni-NTA Agarose, Quiagen) con 10 ml de buffer B. La muestra se dejó interactuar en la columna durante la noche con agitación rotatoria (MACSMIX™, Miltenyi) a 4°C.

El exceso de proteína unida a la columna se eluyó con buffer B. Posteriormente, se realizó un replegamiento en la columna, disminuyendo la concentración de urea en el medio. Se añadieron 5 ml del primer tampón de replegamiento [urea 5 M, Cloruro de sodio (NaCl) 50 mM; Tris-base 10 mM (NH<sub>2</sub>C (CH<sub>2</sub>OH) 3)] pH 8,3, se dejó interactuando en la columna con agitación rotatoria durante 20 minutos, a 4 °C, se eluyó el tampón y se añadió el siguiente

tampón (Urea 4 M, Cloruro de sodio 50 mM, Tris-base 10 mM) pH 8,3 se dejó interactuando en la columna con agitación rotatoria durante 20 minutos, a 4 °C. La concentración de urea en la columna fue disminuyendo hasta una concentración de 0.062 M de urea. Para la elución de la proteína en la matriz de la columna se usó un buffer (cloruro de sodio 50 mM; Tris-base 10 mM, Imidazol 250 mM) en alícuotas de un mililitro. Las alícuotas se almacenaron a 4 °C, sin congelar para evitar una posible precipitación, posteriormente se analizaron mediante SDS-PAGE al 12%.

### *Cromatografía de intercambio iónico*

Se usó la cromatografía de intercambio iónico para la eliminación co-purificación de proteínas por cromatografía de intercambio iónico. Las muestras que se sometieron a un proceso de diafiltración o diálisis, se usaron para esta cromatografía. Se usó 1 ml de resina (Macro-Prep® DEAE, Biorad) con un ml de proteína.

Se usó un gradiente de cloruro de sodio de 0.1 – 1.0 M con 50 mM Tris-HCL. Se incubó durante 30 minutos cada gradiente de cloruro de sodio. Se realizó un SDS-PAGE al 12% para la confirmación de la proteína CHPV1.9.

### *Electroelusión*

La electroelusión se usa como un método de purificación a través de la separación por medio de SDS-PAGE. Se identificó la banda de interés y se cortó con un bisturí esteril, la muestra se maceró. La muestra se incubó durante toda

la noche en un agitador orbital a 4 °C (Buffer de elusión: 150 mM cloruro de sodio, 0.1% SDS, 20 mM Tris-base, 2 mM EDTA).

## Resultados y discusión

Las estrategias utilizadas para la purificación de una proteína recombinante CHPV1.9 de *B. bigemina* se muestran en la figura 1. En la figura 1 a) se muestra las diferentes eluciones de la cromatografía de afinidad, se observa la co-purificación de otras proteínas, estas otras proteínas se consideran “contaminantes”, algunas de las proteínas presentes en la purificación por IMAC contienen residuos de histidinas (Bolanos-García & Daves, 2006) y en efecto algunas son chaperonas moleculares que pueden unirse a la resina o a la proteína (Howell *et al.*, 2006).

Durante el proceso de cromatografía de afinidad se usaron dos opciones para la eliminación de sales y plegamiento de la proteína, se usó la diálisis y el método on column refolding. Durante el proceso de diálisis se observó una precipitación de la proteína (datos no mostrados), la porción de proteína solubles fue usada para las metodologías de cromatografía de intercambio iónico. Ladiáfiltración no se usó como un método para el replegamiento, pero se usó para la eliminación parcial de sales y posteriormente las muestras fueron usadas para la metodología de electroelusión.

Alguna de las estrategias para eliminar la copurificación usada comúnmente también para el plegamiento de la proteína, es el replegamiento en columna (On column refolding)

(Thomas *et al.*, 2012), para el propósito de la purificación CHPV1.9 se usó esta metodología en batch usando gradiente de imidazol para la elución de CHPV1.9 (figura 1 b), se observa que a una concentración de imidazol 250 mM (línea 6) hay una elución a una concentración de 0.250 mg / ml. El resultado obtenido por este método indica un bajo rendimiento, se ha demostrado en trabajos anteriores que el rendimiento de proteína purificada por este método es variable y depende de las características como motivos hidrofóbicos, punto isoeléctrico y la interacción de la etiqueta de histidinas con el plegamiento de la proteína (Lemercier *et al.*, 2003; Gen & Chang, 1992).

Por otra parte, la cromatografía de intercambio iónico, se ha implementado como una alternativa para la eliminación de proteínas copurificadas y contaminantes como ADN o endotoxinas (Li *et al.*, 2003). En la figura 1 c) se muestra las eluciones correspondientes a los gradientes de cloruro de sodio 0.1 – 0.4 M (línea 5-8), la elución correspondiente a 0.4 M de cloruro de sodio se observa la banda del peso correspondiente a la proteína CHPV1.9. Sin embargo, el rendimiento comparado con el total de muestra de la elución de la cromatografía de afinidad es bajo, la muestra eluida no pudo ser cuantificada por el método de Bradford. Los resultados obtenidos a partir de los métodos para eliminar copurificaciones (on column refolding e intercambio iónico) mostraron tener rendimientos bajos de obtención de proteína purificada, comparables con los resultados de la purificación y replegamiento de la proteína NS3 del virus hepatitis C, usando los dos méto-

dos obtuvieron rendimientos bajos de concentración (Li *et al.*, 2003).

En base a los resultados obtenidos, se usó un método de obtención de proteína, electroelusión (figura 1 d), se muestra la banda del peso correspondiente a la proteína CHPV1.9.

## Conclusiones

La purificación de la proteína CHPV1.9 fue obtenida por el método de electroelusión, demostrando el mejor método para eliminar la copurificación de proteínas por cromatografía de afinidad, aunque por este método solo se obtiene el plegamiento parcial. Las metodologías mostradas en este trabajo no son universales para otras proteínas, en efecto se debe considerar el tamaño de la proteína, la hidrofobicidad, actividad catalítica (en caso de enzimas) y el punto isoeléctrico.

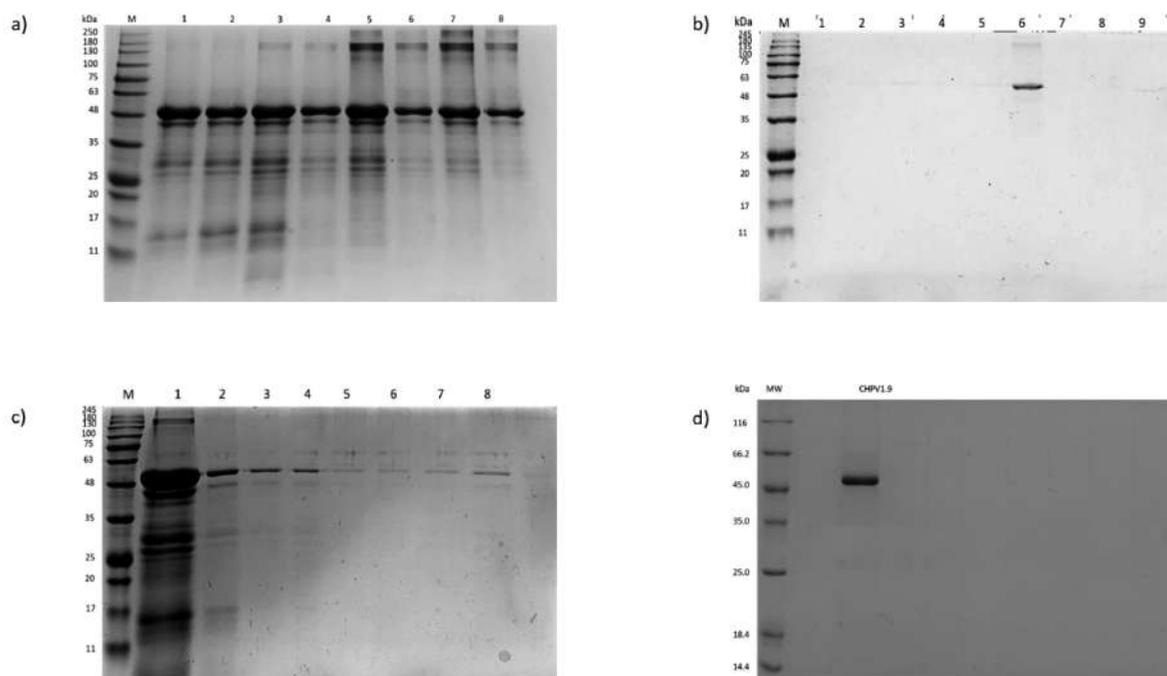


Figura 1: SDS-PAGE de metodología para la purificación de CHPV1.9. a) L1-L8 Elusión 1- Elusión 8 de la proteína CHPV1.9 (49 kDa MW) por cromatografía de afinidad (IMAC). b) Purificación de CHPV1.9 por on column refolding L1-L3 elusiones a 150 mM imidazol; L4-L6 elusiones a 250 mM imidazol; L7-L9 elusiones a 500 mM imidazol. c) Purificación de CHPV1.9 por cromatografía de afinidad, L1 elusión por IMAC; L2 Dialisis de la elusión; L3 Flowtrought; L5-L-8 Elusiones por gradiente de cloruro de sodio (0-1 – 0-4 M). d) Purificación de CHPV1.9 por electroelusión.

# Literatura citada

- Bolanos-Garcia, V. M., & Davies, O. R. (2006). Structural analysis and classification of native proteins from *E. coli* commonly co-purified by immobilised metal affinity chromatography. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1760(9), 1304-1313.
- Howell, J. M., Winstone, T. L., Coorsen, J. R., & Turner, R. J. (2006). An evaluation of in vitro protein-protein interaction techniques: assessing contaminating background proteins. *Proteomics*, 6(7), 2050-2069.
- Lemercier, G., Bakalara, N., & Santarelli, X. (2003). On-column refolding of an insoluble histidine tag recombinant exopolyphosphatase from *Trypanosoma brucei* overexpressed in *Escherichia coli*. *Journal of Chromatography B*, 786(1-2), 305-309.
- Geng, X., & Chang, X. (1992). High-performance hydrophobic interaction chromatography as a tool for protein refolding. *Journal of Chromatography A*, 599(1-2), 185-194.
- Li, M., Poliakov, A., Danielson, U. H., Su, Z., & Janson, J. C. (2003). Refolding of a recombinant full-length non-structural (NS3) protein from hepatitis C virus by chromatographic procedures. *Biotechnology letters*, 25(20), 1729-1734.
- Combrink, M. P., Troskie, P. C., Plessis, F. D., & Latif, A. A. (2010). Serological responses to *Babesia bovis* vaccination in cattle previously infected with *Babesia bigemina*. *Veterinary Parasitology*, 170(1-2), 30-36.
- De Waal, D. T., & Combrink, M. P. (2006). Live vaccines against bovine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 138(1-2), 88-96.
- Brown, W. C., Norimine, J., Knowles, D. P., & Goff, W. L. (2006). Immune control of *Babesia bovis* infection. *Veterinary Parasitology*, 138(1-2), 75-87. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.041>.
- Suarez, C. E., & Noh, S. (2011). Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary parasitology*, 180(1), 109-125.
- Camacho-Nuez, M., Hernández-Silva, D. J., Castañeda-Ortiz, E. J., Paredes-Martínez, M. E., Rocha-Martínez, M. K., Alvarez-Sánchez, M. E., ... & Mosqueda, J. (2017). Hap2, a novel gene in *Babesia bigemina* is expressed in tick stages, and specific antibodies block zygote formation. *Parasites & vectors*, 10(1), 1-9.
- Hernández-Silva, D. J., Valdez-Espinoza, U. M., Mercado-Uriostegui, M. A., Aguilar-Tipacamú, G., Ramos-Aragón, J. A., Hernández-Ortiz, R., ... & Mosqueda, J. (2018). Immunomolecular characterization of MIC-1, a novel antigen in *Babesia bigemina*, which contains conserved and immunodominant B-cell epitopes that induce neutralizing antibodies. *Veterinary sciences*, 5(2), 32.

# Presencia de epítomos B conservados de la proteína GP-45 de Babesia bigemina en diferentes zonas geográficas de México

**Mercado-Uriostegui, M. A.**

- Laboratorio de inmunología y Vacunas, C. A. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Querétaro, México.  
- Doctorado en Ciencias biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Querétaro, México.

**Valdez-Espinoza, U.M.**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, CdMx, México.

**Castro-Sánchez, L. A.**

Laboratorio de inmunología y Vacunas, C. A. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Querétaro, México.

**Falcón-Neri, A.**

Centro de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinario (CENID-PAVET) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, agrícolas y pecuarias (INIFAP), Jiutepec, Morelos, México.

**Ramos-Aragón, J. A.**

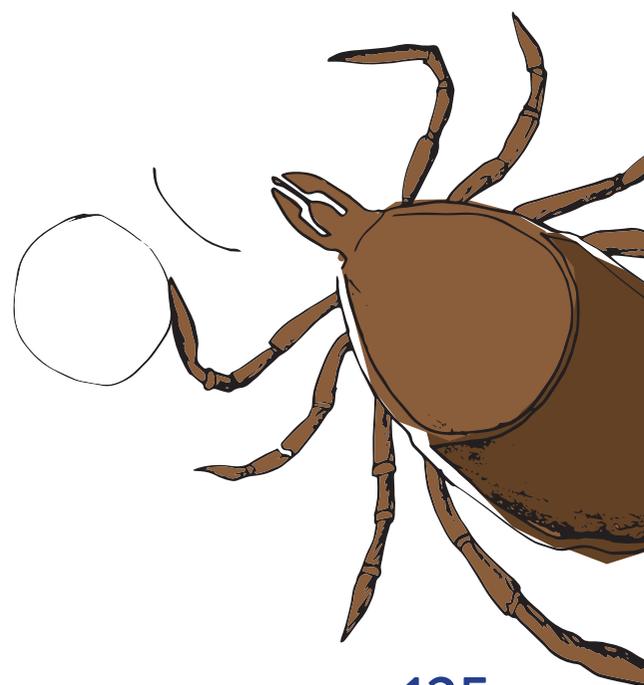
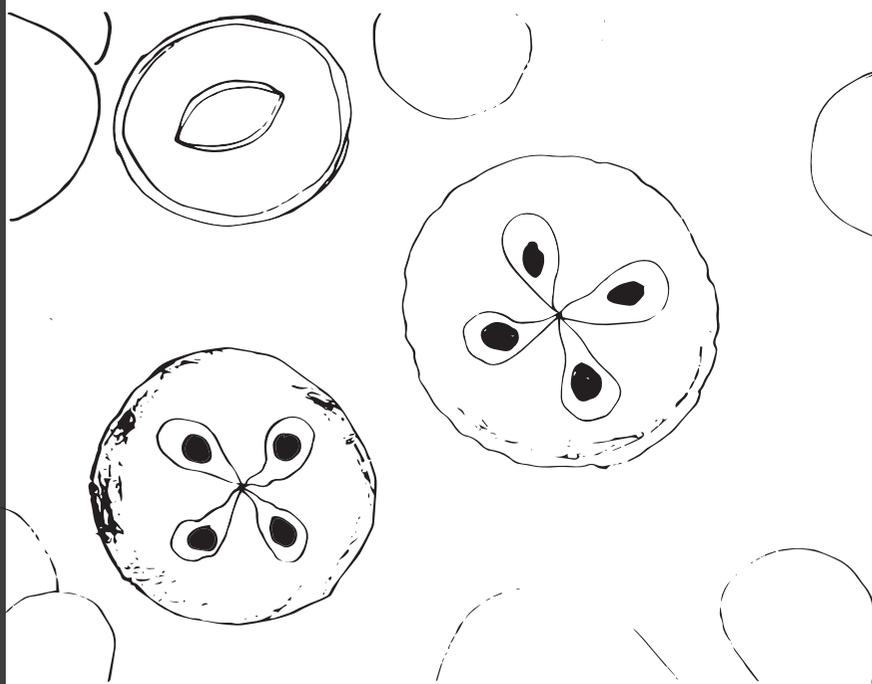
Centro de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinario (CENID-PAVET) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, agrícolas y pecuarias (INIFAP), Jiutepec, Morelos, México.

**Hernández-Ortiz, R.**

Centro de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinario (CENID-PAVET) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, agrícolas y pecuarias (INIFAP), Jiutepec, Morelos, México.

**Mosqueda J. J.**

Laboratorio de inmunología y Vacunas, C. A. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Querétaro, México.



# Introducción

La babesiosis bovina es una enfermedad intraeritrocitaria ocasionada por protozoarios del genero *Babesia* (Carvalho et al., 2015) y transmitida por garrapatas de las especies *Rhipicephalus microplus* y *Rhipicephalus annulatus* (Domingos et al., 2015). Las especies *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* pueden infectar a rumiantes como los bovinos causando importantes pérdidas económicas y en algunos casos la muerte de los animales (Schnittger et al., 2012), también pueden infectar a animales domésticos y fauna silvestre (Ueti et al., 2015) en regiones tropicales y subtropicales. La babesiosis bovina ocasionada por *B. bigemina* y *B. bovis* causa pérdidas importantes en la producción de leche y carne (Bock et al., 2004). Se calcula que existen alrededor de 2 mil millones de bovinos que se encuentra expuestos a la babesiosis alrededor del mundo (Schnittger et al., 2012). Se calculó que en México en el año 2013 que la babesiosis y otras enfermedades transmitidas por garrapatas ocasionaron pérdidas de 573 mil millones dólares americanos (Rodríguez-Vivas et al., 2017), sin embargo, es difícil calcular las pérdidas con exactitud debido a la falta de pruebas de diagnóstico temprano para la detección de esta y otras enfermedades.

Existen diversos métodos para el diagnóstico de la babesiosis bovina, los métodos directos que detectan la presencia del parásito o material genético y los métodos indirectos que detectan anticuerpos contra el parásito. Esto métodos permiten determinar la ausencia de la infección en la población y/o ausencia de

manera individual, contribuyendo a la erradicación, confirmación de casos clínicos, determinar la prevalencia y el estado inmunológico de los animales después de una vacunación (OIE, 2014). Las proteínas de membrana que pueden usarse como marcadores immuno-moleculares, sin embargo, algunas de estas proteínas tienen mucha variabilidad porque los patógenos sufren mutaciones adaptativas con el tiempo (Suarez et al., 1998). La proteína GP-45 fue identificada por anticuerpos monoclonales, tiene un peso de 45 kDa y está expuesta en la membrana de merozoítos de *B. bigemina*. GP-45 es una proteína glicosilada que le confiere una mayor inmunogenicidad y por lo tanto es más fácilmente reconocida por el sistema inmunológico bovino. (Fisher et al., 2001; McElwain et al., 1991). En la actualidad se han estudiado diferentes proteínas de membrana que están involucradas en el proceso de incubación de eritrocitos por parte de *Babesia*, algunas de estas proteínas han sido propuestas como candidatas a vacuna u otras como dianas diagnósticas por ejemplo, RAP-1 (Rhoptry-Associated Protein-1), MSA-2c (Merozoite Surface Antigen 2c), MIC-1 (Micronemal Protein 1), RON-2 (Rhoptry Neck Protein -2), SBP-4 (Spherical Body Protein-4), *B. bovis* AMA-1 (Apical Membrane Antigen 1), entre otros (Mosqueda et al., 2019; Barreda et al., 2019; Hidalgo-Ruiz et al., 2018; Hernández-Silva et al., 2017; Mosqueda et al., 2012). Se ha demostrado que se puede generar suero hiperinmunes con secuencias de péptidos a partir de seis aminoácidos, sin embargo, las secuencias de 10-12 aminoácidos son más inmunogénicas. Se ha confirmado que los epítotos B lineales predichos por estos progra-

mas son reconocidos por anticuerpos bovinos positivos para *B. bigemina* por ELISA indirecto (Hernández-Silva et al., 2018) y *B. bovis* respectivamente (Mosqueda et al., 2019; Hidalgo-Ruiz et al., 2018), estos péptidos son fuertes candidatos para su uso en pruebas de diagnóstico específicas de especie y género respectivamente. También que pueden generar anticuerpos monoclonales que reconocen el antígeno crudo mediante ELISA directo o indirecto. Los péptidos son una opción rápida y económica para iniciar un proceso de inmunización en ratones debido a su alta pureza, rapidez de síntesis y que pueden sintetizarse en diferentes matrices para aumentar su inmunogenicidad y tamaño. (Howard y Kaser, 2013). En este trabajo se optó por usar péptidos predichos por métodos bioinformáticos porque no se dispone de proteínas recombinantes correspondientes a los antígenos de interés, además de que el uso de una proteína recombinante no garantiza la detección de anticuerpos específicos. Los péptidos que se utilizaron son conservados en diferentes cepas de *B. bigemina*. Se realizaron análisis bioinformáticos para confirmar de manera in-silico que los péptidos no se cruzan con otras especies de importancia clínica en México que pudieran afectar al ganado.

## Resultados

Evaluación de la presencia de anticuerpos contra *Babesia* en bovinos infectados de manera natural Los sueros evaluados por IFI no muestran reacción cruzada con *B. bovis* (resultados no mostrados), los sueros fueron evaluados por inmunofluorescencia indirecta de los cuales 126 sueros, 81 positivos por IFI y 45 negativos por IFI. Cada suero se probó con cada péptido individualmente (Cuadro 1). El punto de corte de ELISA se obtuvo con un suero de control de referencia. Todos los sueros con absorbancia superior al punto de corte se consideraron positivos y todos los sueros con absorbancia inferior al punto de corte negativos. Se determinó la presencia de anticuerpos contra los diferentes péptidos de GP-45 en bovinos naturalmente infectados con

*B. bigemina*, con las fórmulas se calcularon los verdaderos positivos, falsos positivos, falsos negativos, verdaderos negativos, sensibilidad, especificidad, concordancia, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo (Cuadro 2).

**Cuadro 1. ELISA indirecto basado en GP-45 de péptidos de B. bigemina. Presencia de anticuerpos contra cada péptido contra B. bigemina sueros de bovinos infectados naturalmente. “+” Positivo; “-” negativo.**

n=126	Estado	Rancho	Total	Péptido 1		Péptido 2		Péptido 3		Péptido 4		Péptido 5		Total
				GP45-1		GP45-CH		GP45-CS		GP45-4		GP45-5		
				"+"	"-"	"+"	"-"	"+"	"-"	"+"	"-"	"+"	"-"	
		Villa Guadalupe	7	0	7	0	5	2	6	1	7	0	7	
	Aguascalientes	Las Palomas	35	23	1	20	4	17	7	14	10	19	5	24
		Granja María I	4	0	3	1	2	2	3	1	3	1	4	
	Querétaro	Granja Areceli	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2
		El Torito	6	2	7	1	6	2	7	1	7	1	8	
	Sinaloa	La Herradura	20	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2
		El Barón	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	
		El Moral	8	0	8	0	8	0	7	1	8	0	8	
		El Arbolito	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	
		Playa Vicente	2	0	2	0	1	1	2	0	2	0	2	
		La Esperanza	2	1	2	1	3	0	2	1	2	1	3	
	Veracruz	Las Torres	24	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
		San Faudila	3	0	2	1	3	0	3	0	3	0	3	
		El orijuelo	11	0	9	2	10	1	11	0	11	0	11	
		Buenos Aires	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71</b>	<b>10</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>66</b>	<b>15</b>	<b>73</b>	<b>8</b>	<b>81</b>
		<b>Total Positivos/Negativos</b>	<b>81</b>	<b>77</b>	<b>4</b>	<b>71&lt;/</b>								

topos B lineales conservados entre diferentes aislados en las proteínas candidatas a vacuna de *B. bigemina* se demostró mediante técnicas bioinformáticas. La prueba de ELISA desarrollada en el presente trabajo alcanzó una especificidad diagnóstica del 100% utilizando péptidos sintéticos pertenecientes a una región hidrofílica de la proteína GP-45 de *B. bigemina*. La prueba de ELISA indirecta basada en los péptidos GP-45-1 desarrollados en el presente trabajo para el diagnóstico de *B. bigemina*, alcanza valores de sensibilidad superiores a los obtenidos por la prueba de ELISA competitiva (comercial) basada en un epítipo de RAP-1 de *B. bovis*, que alcanza una sensibilidad del 60% utilizando sueros bovinos de diferentes partes de México (Chung et al., 2017). La prueba de ELISA indirecta basada en el péptido GP-45-1 tiene un 35% más de sensibilidad para detectar

*B. bigemina* que la prueba ELISA competitiva (comercial) basada en un epítipo de RAP-1 para la detección de *B. bovis*. La prueba de ELISA indirecta basada en la proteína SBP-4 recombinante para la detección de *B. bovis*, alcanzó el 98.7% de sensibilidad diagnóstica utilizando sueros de diferentes partes de México (Chung et al., 2017). La sensibilidad diagnóstica de esa prueba para esa especie, superó los valores obtenidos en el presente trabajo para la detección de anticuerpos contra *B. bigemina* mediante la ELISA indirecto basado en el péptido GP-45-1 de *B. bigemina*. Castillo-Pérez et al., (2017) desarrollaron la prueba de ELISA indirecta utilizando la proteína recombinante RAP-1a de *B. bigemina* para la detección de anticuerpos contra este parásito alcanzando una

sensibilidad del 90% y una especificidad del 98,75%. Las pruebas de ELISA evaluadas por Kim et al., (2007) donde utilizaron la proteína recombinante rMSA-2c *B. bovis* y rRAP-1 / CT17 de *B. bigemina*, alcanzaron 96,7% de sensibilidad, 95% y 93,8% de especificidad respectivamente, los valores obtenidos en este trabajo son similares en sensibilidad, sin embargo, la especificidad fue excedida en 6.2%.

## Conclusiones

Los péptidos GP-45 de *B. bigemina* pueden usarse para el Desarrollo de vacunas basadas en péptidos. Los sueros de bovinos infectados de manera natural reconocieron los péptidos hasta con 95% de especificidad. Los péptidos evaluados en este trabajo se encuentran presentes solo en *B. bigemina* y son excelentes para el diagnóstico serológico. Las ELISAs indirectas desarrolladas en este trabajo son potencialmente patentables.

# Literatura Citada

- Barreda, D., Hidalgo-Ruiz, M., Hernández-Ortiz, R., Ramos, J. A., Galindo-Velasco, E., & Mosqueda, J. (2019). Identification of conserved peptides containing B-cell epitopes of *Babesia bovis* AMA-1 and their potential as diagnostics candidates. *Transboundary and emerging diseases*.
- Bock, R., Jackson, L., De Vos, A., & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*, 129(S1), S247-S269. Castillo-Pérez, I. M., Lira-Amaya, J. J., Castañeda-Arriola, R. O., Cantú-Covarrubias, A., Mejía-Estrada, F., Polanco-
- Martínez, D. J., ... & Figueroa-Millán, J. V. 2017. Comparación de pruebas serológicas para el diagnóstico epidemiológico de babesiosis bovina transmitida por garrapatas. *Entomología mexicana*, 4: 621-626 (2017)
- Chung, C. J., Suarez, C. E., Bandaranayaka Mudiyansele, C. L., Bandaranayaka- Mudiyansele, C. B., Rzepka, J., Heiniger, T. J., Chung G., Lee, S. S., Adams E., Yun G. & Waldron, S. J. (2017). A novel modified- indirect ELISA based on spherical body protein 4 for detecting antibody during acute and long-term infections with diverse *Babesia bovis* strains. *Parasites & vectors*, 10(1), 77.
- Domingos, A., Antunes, S., Villar, M., & de la Fuente, J. (2015). Functional Genomics of Tick Vectors Challenged with the Cattle Parasite *Babesia bigemina*. *Veterinary Infection Biology: Molecular Diagnostics and High-Throughput Strategies* (pp. 475-489). Springer Science+Business Media New York.
- Fisher, T. G., McElwain, T. F., & Palmer, G. H. (2001). Molecular Basis for Variable Expression of Merozoite Surface Antigen GP-45 among American Isolates of *Babesia bigemina*. *Infection and immunity*, 69(6), 3782-3790.
- Hernández-Silva, D., Valdez-Espinoza, U., Mercado-Uriostegui, M., Aguilar-Tipacamú, G., Ramos-Aragón, J., Hernández-Ortiz, R., ... Mosqueda, J. (2018). Immunomolecular Characterization of MIC-1, a Novel Antigen in *Babesia bigemina*, Which Contains Conserved and Immunodominant B-Cell Epitopes that Induce Neutralizing Antibodies. *Veterinary Sciences*, 5(2), 32.
- Hidalgo-Ruiz, M., Suarez, C. E., Mercado-Uriostegui, M. A., Hernandez-Ortiz, R., Ramos, J. A., Galindo-Velasco, E., ... Mosqueda, J. (2018). *Babesia bovis* RON-2 contains conserved B-cell epitopes that induce an invasion- blocking humoral immune response in immunized cattle. *Parasites and Vectors*, 11(1), 1-11.
- Howard, G. C., & Kaser, M. R. (2013). *Making and using antibodies: a practical handbook*. CRC press.
- Kim, C. M., Blanco, L. B. C., Alhassan, A., Iseki, H., Yokoyama, N., Xuan, X., & Igarashi, I. (2008).

- Development of a rapid immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of bovine babesiosis caused by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 78(1), 117-121.
- McElwain, T.F., Perryman, L.E., Musoke, A.J., McGuire, T.C., 1991. Molecular characterization and immunogenicity of neutralization-sensitive *Babesia bigemina* merozoite surface proteins. *Mol Biochem Parasitol* 47, 213-222.
- Mosqueda, J., Hidalgo-Ruiz, M., Calvo-Olvera, D. A., Hernandez-Silva, D. J., Ueti, M. W., Mercado-Uriostegui, M. A., ... & Igarashi, I. (2019). RON2, a novel gene in *Babesia bigemina*, contains conserved, immunodominant B- cell epitopes that induce antibodies that block merozoite invasion. *Parasitology*, 146(13), 1646-1654.
- Mosqueda, J., Olvera-Ramirez, A., Aguilar-Tipacamú, G., & J Canto, G. (2012). Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Current medicinal chemistry*, 19(10), 1504-1518.
- International Office of Epizootics (OIE). (2014). Bovine babesiosis. In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi, L., de León, A. A. P., Villela, H. S., de Jesús Torres-Acosta, J. F., Sánchez, H. F., ... & Carrasco, D. G. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Review. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61-74.
- Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M., & Morrison, D. A. (2012). *Babesia*: a world emerging. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(8), 1788-1809.
- Suarez, C. E., Palmer, G. H., Hötzel, I., & McElwain, T. F. (1998). Structure, sequence, and transcriptional analysis of the *Babesia bovis* rap-1 multigene locus. *Molecular and biochemical parasitology*, 93(2), 215-224.
- Ueti, M. W., Olafson, P. U., Freeman, J. M., Johnson, W. C., Scoles, G. A. (2015). A virulent *Babesia bovis* strain failed to infect white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *PloS one*, 10(6), e0131018.

# Factores determinantes para la obtención de la toxina K1 de *Saccharomyces cerevisiae*

**Molina-Vera, C. A.**

Maestría en Ciencias Biológicas.  
Facultad de Ciencias Naturales.  
UAQ.

**Morales-Tlalpan, V.**

Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.  
Unidad de Protogenómica. INB. UNAM.  
Campus Juriquilla.

**González-Gallardo, A.**

Unidad de Protogenómica. INB. UNAM.  
Campus Juriquilla.

**Vázquez-Mendieta, J. A.**

**De la Cruz-Sariñana L. A.**

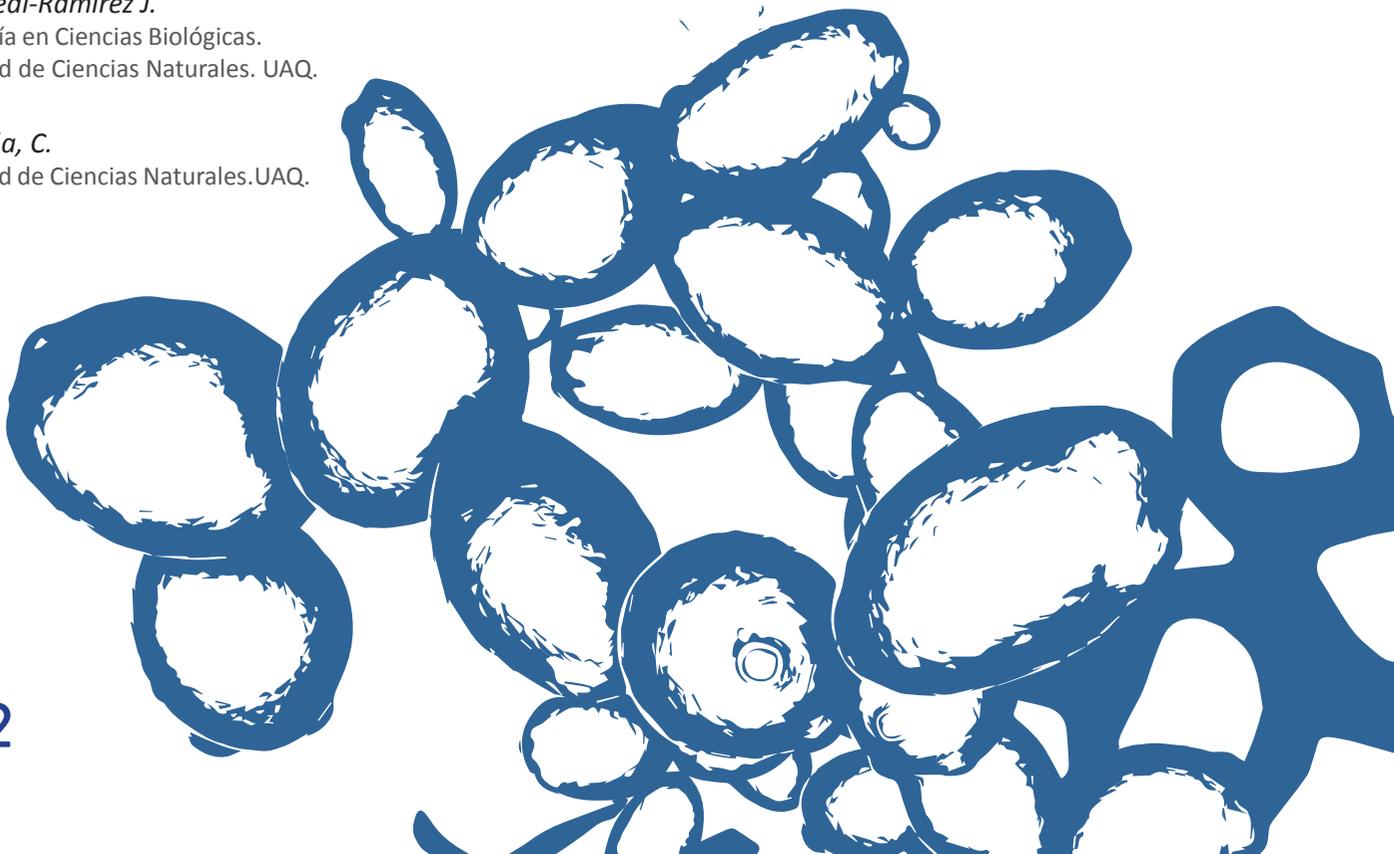
Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**Villarreal-Ramírez J.**

Maestría en Ciencias Biológicas.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

**Saldaña, C.**

Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

*Saccharomyces cerevisiae* ha sido el hongo más utilizado para la producción de pan y alcohol. Sin embargo, es un organismo muy atractivo en la experimentación científica debido sus características genéticas y su fácil manutención en el laboratorio (Salari & Salari, 2017). Una característica relevante que presenta *S. cerevisiae* es el fenotipo *Killer*. Este fenotipo caracteriza a algunas cepas de levadura capaces de producir una toxina: una molécula protéica capaz de causar la muerte en cepas sensibles (Bevan & Makower, 1963). Estas toxinas han sido llamadas tokinas “*Killer*” debido a que inducen la muerte a cepas sensibles. Se han descubierto diversas toxinas *Killer* en *S. cerevisiae*; cuyo origen radica en la simbiosis de la levadura con dos agentes virales (llamados ScV: *Saccharomyces cerevisiae* viruses). Entre los mas estudiados, encontramos a los nombrados virus M y L-A helper, pertenecientes al virus de la familia *Totiviridae*. El ensamblaje de estos virus es complejo y se ha demostrado que está constituido de RNA de doble cadena (dsRNA). Dentro de la secuencia genética del virus M se ha encontrado una región que codifica para una preprotoxina, mientras que en el virus L-A helper, contiene la secuencia para la cápside y la RNA polimerasa dependiente de RNA (Pieczynska et al., 2017). Las toxinas *Killer*, reciben su nombre con base en el tipo de ScV que infecta a la levadura; por ejemplo: las toxinas *Killer K1, K2, K28* y *Klus* son producidas por los virus M1, M2, M28 y Mlus, respectivamente (Rodríguez-Couñño et al., 2011).

La toxina *Killer 1 (K1)* de *S. cerevisiae* induce la muerte en diversas cepas de *S. cerevisiae*, *Ustilago maydis*, *Zygosaccharomyces bailii*, entre otros (Becker & Schmitt, 2017), sugiriendo fuertemente, que hay procesos conservados a través de la escala evolutiva. La estructura primaria de *K1* (ppto<sub>x</sub>) está constiuida por 4 subunidades ( $\delta$ - $\alpha$ - $\gamma$ - $\beta$ ); la ppto<sub>x</sub> es una molécula inmadura, para su maduración se requiere el procesamiento en el retículo y en el aparato de Golgi por las carboxilpeptidasas Kex1 y Kex2 (Gier et al., 2019). La toxina madura esta conformada por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , mientras que las subunidades  $\delta$  y  $\gamma$  son eliminadas mediante la acción de las enzimas Kex1 y Kex2; interesantemente, el proceso de maduración de *K1* comparte mecanismos moleculares similares a los que son utilizados para la maduración de la insulina (Ahmed et al., 1999).

Para que *K1* induzca la muerte en celulas sensibles, se requieren dos pasos: 1) se sugiere que *K1* reconozca en la pared celular de la levadura sensible, al 1-6- $\beta$ -D-glucano y 2) que *K1* reconozca y se una al canal de potasio de 2 poros en tandem (Tok1p), localizado en la membrana plasmática. La interaccion de *K1* a Tok1p desencadena que el canal se active permitiendo la salida de potasio, despolarizando a la célula, causando la muerte de la célula (Sesti et al., 2001).

Otro evento importante que se ha observado es la falta de actividad de *K1* en la *S. cerevisiae* productora, es decir, las cepas presentan inmunidad a su propia toxina; sin embargo, pueden ser sensibles a otras toxinas (Vondrejs & Palková, 1996). La inmunidad de *K1* se ha su-

gerido que se debe a la interacción de la pptox con el canal Tok1p en la porción citoplasmática del canal, modificando la estructura tridimensional e inactivándolo (Bartunek et al., 2001). Los mecanismos de inmunidad de las toxinas Killer son distintos para cada caso, por ejemplo, el mecanismo de inmunidad para la toxina K28 (inhibidor irreversible de la síntesis de DNA) es muy distinto al de K1; puesto que la inmunidad ante esta toxina hace uso del transporte retrógrado de la preprotoxina para ubiquitarla y posteriormente degradarla en el proteosoma (Becker & Schmitt, 2017).

En el presente trabajo se esclarecen las condiciones determinantes que rodean al fenotipo killer de la toxina K1, tales como el pH, medio de cultivo, cantidad de inóculo y tiempo. Así mismo, determinar cómo estas condiciones influyen en la obtención de la preprotoxina a nivel de mRNA.

## Metodología

### *Cepas y medios de cultivo*

Las cepas *S. cerevisiae* 5x47 sensible (MAT $\alpha$ / $\alpha$  his1/+ trp1/+ ura3/+ [K10 K20 K280 Klus0]) (amablemente donadas por la Dra. Rosa Esteban (Universidad de Salamanca, España) y *S. cerevisiae* killer ATCC 42300 (MAT  $\alpha$  Ade2/+ Thr1/+ sKi2-1/+ [KIL-K1]). Las cepas fueron cultivadas en medio YPD líquido o YPD-agar (Extracto de levadura 1 %, Peptona 2 %, Glucosa 2 %, Agar 2.5 %). YPD pH 4, 4.5, 4.7, 5 y 6 fue-

ron preparados adicionando 0.1 M de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y ajustando con ácido cítrico 1M (pH 6 se ajustó con KOH 1M en vez de ácido cítrico). Los experimentos con medio inductor (Extracto de levadura 7.5g/L, Peptona 5 g/L, FeCl<sub>3</sub> 30  $\mu$ M, MgSO<sub>4</sub> 2 mM, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 mM, KCl 10 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, Glicerol 52 g/L) (Novotna et al., 2004). Todos los cultivos fueron establecidos a una concentración inicial de 0.5 mg/mL, incubándose a 28 °C por 48 horas. Los experimentos con cambio de medio fueron realizados a las 24 horas de cultivo inicial sustituyendo el caldo YPD por un volumen de medio inductor.

### *Ensayos de inhibición en placa*

Se evaluó la letalidad de la toxina K1 contra la cepa sensible 5x47 mediante una serie de ensayos de letalidad en placa (Palková & Vondrejs, 1996). Cada experimento consistió en el inóculo de un césped de levadura 5X47 (0.3 mg, 1 mg y 3 mg) en cajas de YPD-agar a diferente pH: 4, 4.5, 4.7, 5 y 6 (control). La cepa killer 42300 fue adicionada a distintas cantidades (0.1mg, 0.4mg, 1mg, 2mg, 3mg, 4mg, 5mg, 6mg, 7mg y 10mg) en un volumen constante de 10 ml. Las cajas se mantuvieron a temperatura constante de 27°C por 48 horas, fotografiando a las 24 y 48 horas. El efecto de muerte o inhibición (fenotipo *killer*) fue determinado mediante la siguiente fórmula:

$$K = [\text{Área de inhibición}] - [\text{Área de cultivo } K^+]$$

El resultado obtenido de la resta de estas áreas fue evaluado como el área de muerte en el programa ImageJ para Mac.

## **Obtención del RNA total y DNA genómico.**

La cepa killer 42300 fue crecida en medio YPD por 24 horas a 28 °C con agitación constante, seguida de la sustitución por medio inductor, incubando otras 24 horas. Las células fueron colectadas por centrifugación (5000 rpm, 10 min) y pesadas. Las pastillas celulares fueron lisadas mediante choque térmico (nitrógeno líquido seguido de 55 °C), posteriormente se realizó la extracción de RNA total mediante el método de Trizol. Para cada reacción se usaron 750 µL de Trizol por cada 100 mg de levadura. A la par de las extracciones de RNA, se realizó una extracción de ácidos nucleicos totales resuspendiendo las pastillas celulares con 350 µL de Buffer RC (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 0.1 M NaCl, 10 mM EDTA y 0.2 % SDS) (Rodríguez-Cousiño et al., 2011), seguido de una extracción con fenol cloroformo; a partir de esta extracción se obtiene mRNA, dsRNA y mtDNA. La visualización de los ácidos nucleicos se realizó en un gel de agarosa al 1 % en TBE 0.5x y la aplicación de un campo eléctrico 100V por 20 min.

## **Síntesis de DNA complementario (cDNA)**

La síntesis de cDNA se llevó a cabo con la enzima transcriptasa reversa M-MLV RT (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Brevemente, se utilizaron 2 mg de mRNA o dsRNA por reacción, se añadió 1U de Dnasa I; tras la eliminación del DNA, se queda únicamente con RNA de cadena sencilla, el cual será retrotranscrito en cDNA para su posterior utilización en el RT-PCR.

## **Amplificación del gen M1 por RT-PCR**

A partir del cDNA obtenido de la cepa *S. cerevisiae* ATCC 42300 se amplificó el gen completo M1 codificante de la ptoxa K1 mediante RT-PCR punto final utilizando los primers K1YESFw (*gcgggatccgcatgacgaagccaaccaagatttagtttag*) y K1YESRv (*gcatctagactagtggcctgtgtcacagccttcaaag*) los cuales contienen las secuencias de restricción para las enzimas BamHI y XbaI respectivamente (minúsculas). Las reacciones de RT-PCR se realizaron con la enzima Go Taq Flexi DNA (Promega) adicionando 25mM de MgCl<sub>2</sub>. Se utilizó el termociclador c1000 (BIO-RAD), las condiciones de amplificación fueron 94 °C 5 min., seguido de 30 ciclos de 94 °C 45 seg., 64.5 °C 30 seg., 72 °C 1 min.

## **Análisis estadístico.**

Los datos correspondientes a los ensayos de inhibición en placa se analizaron mediante el análisis de varianza univariado (ANOVA) y multivariado (MANOVA) para varias muestras, comparando los tiempos de cultivo, cantidad de

césped inoculado, pH y cultivo de la cepa productora. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa Past 4 para Mac.

## Resultados y Discusión

### *La proporción de la cepa sensible y el pH influyen en la magnitud del efecto killer.*

Con el fin de esclarecer las condiciones que propicien la identificación del mRNA de la *pp-tox K1*, se realizó una serie de ensayos de inhibición en placa. Al probar diferentes cantidades de césped, pH, cultivo de la cepa productora de *K1* y cantidad de levadura productora puesta sobre el césped sensible, fue posible obtener un panorama más completo de las condiciones determinantes para la obtención de un mayor efecto killer sobre la cepa sensible.

La determinación del efecto que tiene la cantidad de levadura sensible inoculada en el césped sellevó a cabo probando 0.3 mg, 1 mg y 3 mg de cepa sensible 5x47 por cada caja, evaluando el tamaño del halo de inhibición a las 24 y 48 horas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante MANOVA, demostrando que la cantidad de inóculo determina el tamaño del halo, siendo 0.3 mg la cantidad de césped en donde se observan halos de mayor tamaño ( $p < 0.05$ ) (**Figura 1A**), mientras que en los céspedes de 1 y 3 mg no se muestran diferencias significativas en el tamaño del halo de inhibición. A la par, se probó si la cantidad de cepa killer 42300 tiene

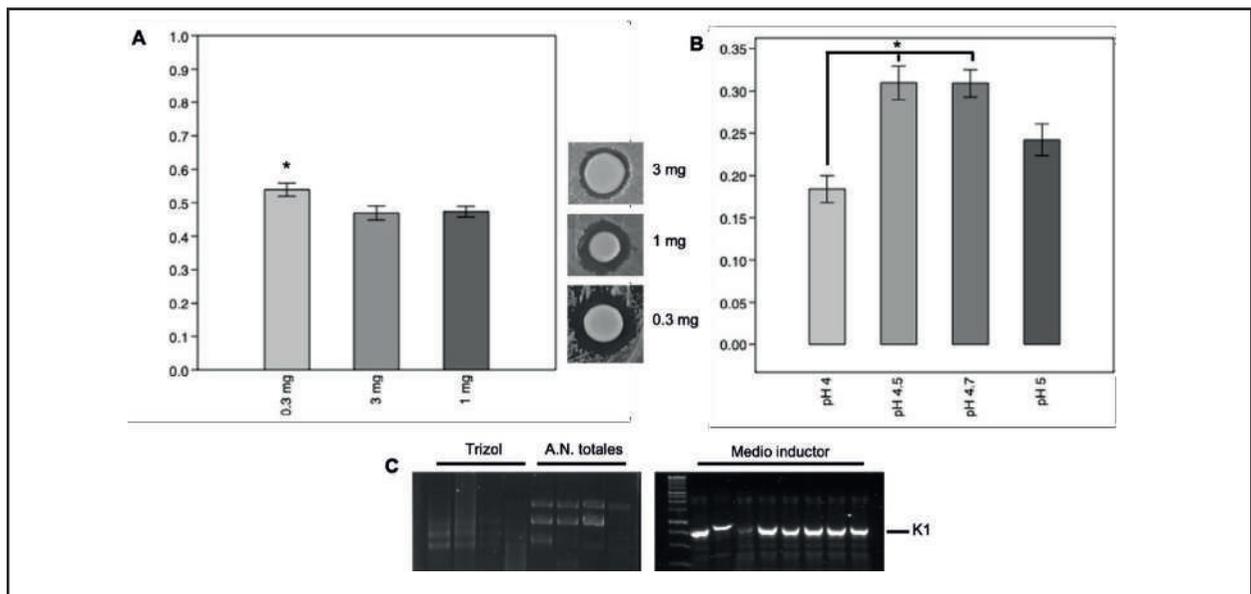
un efecto en el área de inhibición, por lo cual se probaron tres escenarios: diferente cantidad de cepa killer en distintos volúmenes, diferente cantidad de cepa killer en mismo volumen y misma cantidad de cepa killer en mismo volumen. Tras analizar los datos obtenidos, se demostró que no hay diferencias significativas en el tamaño del halo de inhibición generado por las distintas cantidades de cepa killer, tanto a las 24 horas, como a las 48 horas. Estos resultados muestran que el efecto killer se relaciona con la disponibilidad de la toxina respecto del área de contacto con la cepa sensible (**Figura 1A**), es decir la cantidad de toxina secretada al medio afecta una misma cantidad de levaduras sensibles, las cuales se encuentran ya sea estratificadas en cultivos con mayor densidad (1 y 3 mg) o dispersas en cultivos menos densos (0.3 mg), este efecto semeja a la efectividad denso-dependiente de algunos antibióticos sobre microorganismos en altas densidades, los cuales tienen un efecto reducido ante cultivos densos (Udekwu et al., 2009).

El pH es uno de los puntos más evaluados en el mecanismo de acción de la toxina *K1*. La estabilidad de los puentes disulfuro que unen a la subunidad  $\alpha$  y  $\beta$  son más estables a pH básicos, mientras que a pH ácidos los puentes disulfuro se rompen (Rajpal & Arvan, 2013), permitiendo a las subunidades interactuar con los sitios blanco. Este dato correlaciona con la actividad de la toxina a pH 4.5 y 4.7 reportados previamente (Novotna et al., 2004). Los ensayos realizados en placas de YPD-agar a estos pH mostraron tener un mayor efecto en contraste con los realizados a pH 4 ( $p < 0.05$ , **Figura**

**1B**); así mismo se determinó que el cultivo de la cepa killer 42300 en pH 4.5, 4.7 y medio inductor antes del ensayo de inhibición tiene un efecto positivo en la producción de toxina, obteniendo áreas de inhibición mayores para estos cultivos en comparación con el

cultivo de la cepa killer 42300 en YPD, sin embargo, no hay diferencias significativas entre cultivarla cepa productora en pH 4.5, 4.7 o medio inductor, por lo que se puede utilizar cualquiera de estas condiciones indistintamente para estudios posteriores.

Los resultados obtenidos fungieron como parteaguas para la estandarización de las condiciones para la obtención del mRNA de K1. En este sentido, se realizó una serie de extracciones de RNA total y de A.N. totales (ácidos nucleicos totales), los cuales fueron utilizados para realizar RT-PCR. Interesantemente, el cultivo de la cepa killer 42300 en medio inductor favorece la amplificación del gen M1 (codificante de la toxina K1) (**Figura 1C**). Este resultado muestra un correlato de la presencia del mensajero de toxina K1 en las condiciones donde la levadura tiene un mayor efecto killer.



*Figura 1. Efecto de las condiciones de crecimiento en la identificación del mRNA de K1. Efecto de la cantidad de césped en el efecto killer. (A) La cantidad de cepa sensible es determinante en el tamaño del halo de inhibición, siendo 0.3 mg donde se muestra mayor efecto. (B) La disposición del césped, estratificado saturado o disperso con baja densidad muestra ser un factor delimitante en el efecto killer. (C) El pH con mejor rendimiento en la producción y efecto de la toxina K1 es de 4.5 y 4.7, a pH 4 se muestra un menor efecto en comparación. (D) La amplificación del mRNA de K1 se ve beneficiado por las condiciones del cultivo, en el panel izquierdo se muestran las integridades del material genético extraído con Trizol y fenol cloroformo. El panel derecho muestra la amplificación del gen M1 por RT-PCR.*

*La presencia del mRNA de K1 está delimitado por las condiciones de cultivo.*

## Conclusiones

Las condiciones determinantes en el efecto *killer* observado sobre la cepa sensible 5x47 de *S. cerevisiae* resultaron ser idóneas para la amplificación del mensajero de la toxina K1. En ese sentido, las condiciones propias de la cepa killer que influyen en la maximización del efecto hacen referencia a las condiciones donde crece la cepa productora: pH 4.5, 4.7 o medio inductor. Estas condiciones de crecimiento demostraron tener un mayor efecto en el halo de inhibición, además de ser las condiciones donde se encuentra presente el mRNA de K1.

Por otro lado, la cepa sensible demostró influir negativamente en el tamaño del halo de inhibición debido a la proporción de biomasa sensible respecto a la cepa productora. Esto posiblemente debido a la disponibilidad de la toxina madura en un césped altamente denso (3 mg) en comparación con un césped esparcido (0.3 mg). Un punto interesante a remarcar es que la diferencia entre el tamaño del halo de inhibición entre las 24 y 48 horas no es significativa.

Esto podría explicarse debido a que la toxina se secreta al medio extracelular, por lo que solo las células próximas a la zona de crecimiento de la cepa productora son asesinadas por la toxina, manteniendo una periferia delimitada por la extensión de la producción de la toxina.

## Literatura citada

- Ahmed, A., Sesti, F., Nitza, I., Shih, T. M., Sturley, S. L., & Goldstein, S. A. N. (1999). A molecular target for viral killer toxin: TOK1 potassium channels. *Cell*, *99*(3), 283–291. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81659-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81659-1)
- Bartunek, M., Jelinek, O., & Vondrejs, V. (2001). Susceptibility of Individual Cells of *Saccharomyces cerevisiae* to the Killer Toxin K1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *283*(2), 526–530. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4809>
- Becker, B., & Schmitt, M. (2017). Yeast Killer Toxin K28: Biology and Unique Strategy of Host Cell Intoxication and Killing. *Toxins*, *9*(10), 333. <https://doi.org/10.3390/toxins9100333>
- Bevan, E. A., & Makower, M. (1963). *The physiological basis of the killer character in yeast*. 202–203.
- Gier, S., Lermen, M., Schmitt, M. J., & Breinig, F. (2019). Substitution of cysteines in the yeast viral killer toxin K1 precursor reveals novel insights in heterodimer formation and immunity. *Scientific Reports*, *9*(1), 13127. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49621-z>
- Novotna, D., Flegelova, H., & Janderova, B. (2004). Different action of killer toxins K1 and K2 on the plasma membrane and the cell wall of. *FEMS Yeast Research*, *4*(8), 803–813. <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.04.007>

- Palková, Z., & Vondrejs, V. (1996). Killer Plaque Technique for Selecting Hybrids and Cybrids Obtained by Induced Protoplast Fusion. In I. H. Evans, *Yeast Protocols* (Vol. 53, pp. 339–342). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-319-8:339>
- Pieczynska, M. D., Korona, R., & De Visser, J. A. G. M. (2017). Experimental tests of host–virus coevolution in natural killer yeast strains. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(4), 773–781. <https://doi.org/10.1111/jeb.13044>
- Rajpal, G., & Arvan, P. (2013). Disulfide Bond Formation. In *Handbook of Biologically Active Peptides* (pp. 1721–1729). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385095-9.00236-0>
- Rodríguez-Cousiño, N., Maqueda, M., Ambroña, J., Zamora, E., Esteban, R., & Ramírez, M. (2011). A New Wine *Saccharomyces cerevisiae* Killer Toxin (Klus), Encoded by a Double-Stranded RNA Virus, with Broad Antifungal Activity Is Evolutionarily Related to a Chromosomal Host Gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(5), 1822–1832. <https://doi.org/10.1128/AEM.02501-10>
- Salari, R., & Salari, R. (2017). Investigation of the Best *Saccharomyces cerevisiae* Growth Condition. *Electronic Physician*, 9(1), 3592–3597. PubMed. <https://doi.org/10.19082/3592>
- Sesti, F., Shih, T. M., Nikolaeva, N., & Goldstein, S. A. N. (2001). *Immunity to K1 Killer Toxin: Internal TOK1 Blockade*. *Journal of Cell Biology*, 155(5), 637–644. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00376-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00376-2)
- Udekwu, K. I., Parrish, N., Ankomah, P., Baquero, F., & Levin, B. R. (2009). Functional relationship between bacterial cell density and the efficacy of antibiotics. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(4), 745–757. PubMed. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn554>
- Vondrejs, V., & Palková, Z. (1996). Rhodamine B Assay for Estimating Activity of Killer Toxins Permeabilizing Cytoplasmic Membranes. In I. H. Evans, *Yeast Protocols* (Vol. 53, pp. 319–324). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-319-8:319>

# Ganadería de precisión: posibles factores para considerar al establecer periodos de espera voluntarios

## *Mondragón Vázquez E.*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

## *Montiel Olguín, L. J.*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.  
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en  
Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP.

## *Vera Ávila, H.R.*

## *Chávez López, M. J.*

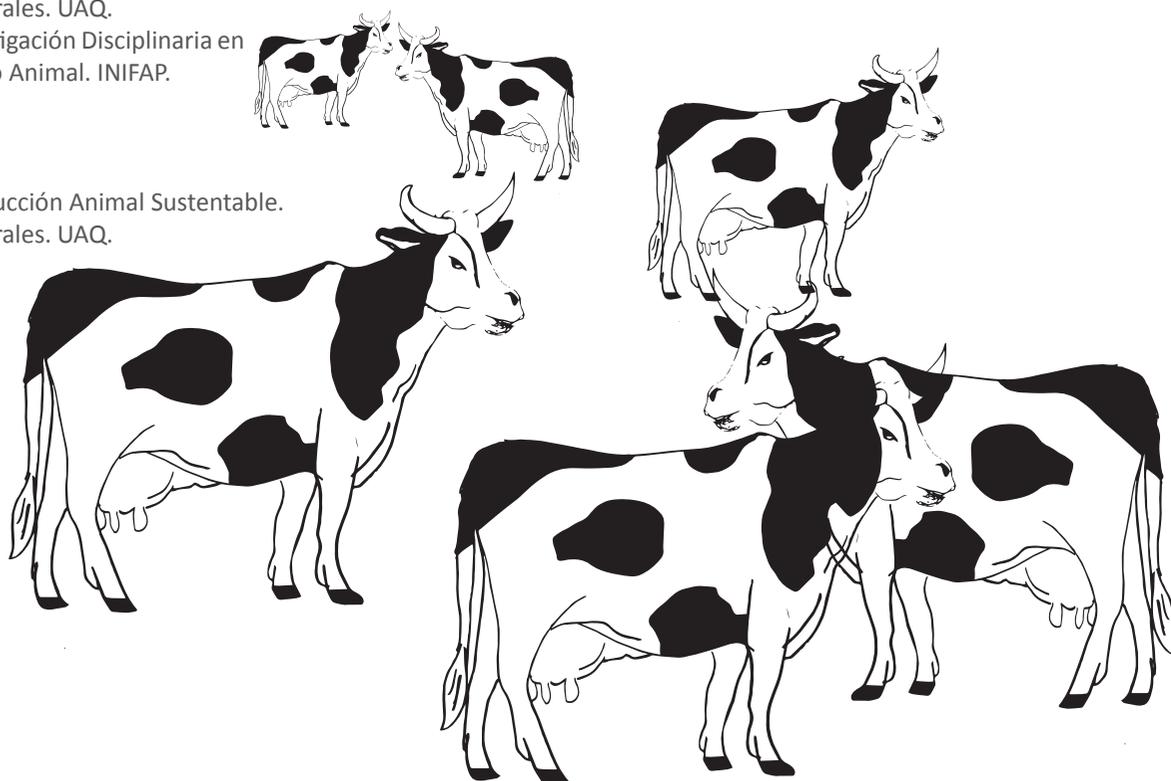
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

## *Espinosa Martínez, M. A.*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.  
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en  
Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP.

## *Salazar Vázquez, J. E.*

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable.  
Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

Los establos pertenecientes al sistema tecnificado de producción de leche en México cuentan con un gran número de cabezas de ganado (SADER, 2020). En estas unidades de producción, día a día se registra información productiva y reproductiva la cual es utilizada para obtener indicadores productivos y reproductivos y evaluar el comportamiento a través del tiempo (Núñez et al., 2019). Aunque estos indicadores son útiles, el tipo de análisis que se lleva a cabo se limita a obtener promedios y porcentajes, sin hacer un análisis más profundo de la información generada (Caraviello et al., 2006). Aunado a esto, el análisis científico de la información, a través de la minería de datos, permite encontrar áreas de oportunidad clave, con la finalidad de establecer estrategias de manejo específicas para cada establo, grupo de animales o incluso a nivel individual, es decir, una vía más hacia la ganadería de precisión (Caraviello et al., 2006; Lokhorst et al., 2019). Por otra parte, el desempeño reproductivo y la rentabilidad en los establos lecheros están fuertemente asociados. Esta asociación radica en que conforme transcurren los días en leche, la eficiencia de las vacas para convertir el alimento en leche disminuye (Britt et al., 2003). Por lo tanto, es importante que las vacas queden gestantes nuevamente lo más pronto posible después de un parto. Aunado a esto, el periodo de espera voluntario (PEV) es una herramienta de manejo que se refiere a los días que transcurren desde el parto hasta el día en que las vacas son elegibles para recibir la primera inseminación artificial (Inchaisri et al., 2011; Miller et al., 2007).

El PEV recomendado en la literatura oscila entre los 45 y 60 días postparto (Inchaisri et al., 2011; Martins y Borges 2012; Stangaferro et al., 2017); antes de los 45 días es probable que aún no se haya completado la involución uterina y reiniciado la actividad estral postparto disminuyendo la probabilidad de que una vaca quede gestante (Núñez et al., 2009; Hernández, 2016). En el escenario opuesto, después de los 60 días es también negativo porque podría incrementar el tiempo que las vacas tardan en quedar gestantes nuevamente (días abiertos), afectando de forma negativa a la rentabilidad. En consecuencia, desde un punto de vista reproductivo, el PEV busca maximizar la tasa de concepción al primer servicio (TC1S) y minimizar los días abiertos. En la literatura se ha reportado que el número de parto, el sexo de la cría y los días en leche son algunos de los factores que impactan el desempeño reproductivo en ganado lechero (Schuenemann et al., 2011). Por lo tanto, con base en todo lo anterior, el objetivo general de esta investigación fue realizar un análisis retrospectivo de las bases de datos de un establo comercial para determinar el PEV a partir de la TC1S. La hipótesis de trabajo es que el PEV ideal desde un punto de vista reproductivo se puede determinar evaluando efecto de los días en leche, paridad y sexo de la cría sobre la tasa de concepción al primer servicio.

## Metodología

El análisis de los registros comprendió al periodo de partos sucedidos entre el 1 de enero del 2019 y el 31 de diciembre del 2019 (1062 registros). Las variables obtenidas fueron: número

de lactación, fecha de parto, tipo de parto (parto-aborto; normal, ayuda y distocia; parto de día o parto de noche), sexo de la cría al parto, fecha de inseminación y resultado del diagnóstico de gestación. Estos datos fueron exportados a hojas de Microsoft Excel y todas las lactaciones se ajustaron a 305 días. Para llevar a cabo el manejo de las bases de datos y los análisis estadísticos se utilizó el programa SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Para determinar el impacto de las variables de estudio sobre la tasa de concepción a primer servicio se siguió el procedimiento propuesto por Potter et al. (2010) para elaborar modelos múltiples de regresión logística. El primer paso comprendió realizar análisis de regresión logística simple entre las variables de estudio (días en leche, sexo de la cría y paridad) y la tasa de concepción a primer servicio (TC1S). Las variables significativas a un valor de  $p < 0.35$  fueron retenidas para análisis posteriores. Para prevenir colinealidad en los modelos múltiples, se obtuvieron coeficientes de correlación y se aplicaron pruebas de  $\chi^2$ . Posteriormente, con los valores retenidos se elaboraron modelos de regresión logística múltiple estableciendo significancia a un valor de  $P < 0.1$ . En los modelos se incluyó el efecto lineal y cuadrático de días en leche. Las clases para lactación fueron 1, 2 y 3 o más (3+); para sexo de la cría se consideró macho y hembra. Los partos gemelares no fueron incluidos en el análisis al representar menos del 1% de los datos. A partir de los análisis de regresión logística, se obtuvieron los estimadores para modelar la probabilidad de quedar gestante a primer servicio y determinar los días en leche para una meta de 35%.

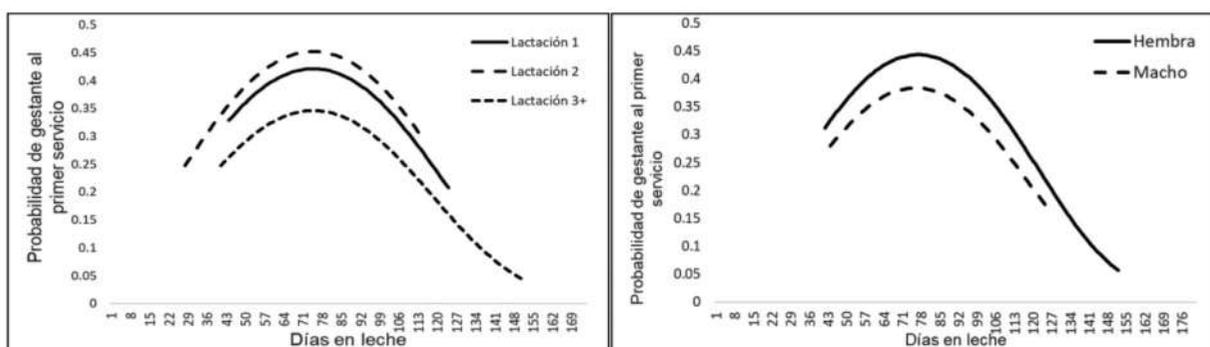
## Resultados y discusión

La TC1S sugerida como meta para establos intensivos es de 35% (Núñez et al., 2009); los resultados de este estudio indican una TC1S de 38%. Si bien, el indicador está dentro de lo aceptable, al hacer un análisis más profundo de la información logramos identificar áreas de oportunidad (objetivo general de mi investigación). Las variables días en leche, lactación y sexo de la cría fueron significativos en modelos simples ( $P < 0.08$ ). Las vacas de primera lactación tuvieron una menor TC1S comparado con las de segunda (39.5 y 42.7%, respectivamente). Aunque este resultado es contrastante con lo reportado en la literatura (Kim y Jeong, 2019), una posible explicación radica en que las vacas de primera lactación aún continúan creciendo mientras inician la producción de leche (Coffey et al., 2006), lo cual tiene repercusiones negativas en el desempeño reproductivo. Por otra parte, las vacas de tercera lactación o más mostraron el menor desempeño (32.3%), lo cual se explica por el efecto acarreado de desgaste metabólico de lactaciones pasadas. Referente al efecto significativo de sexo de la cría (34.8 y 40.5% para macho y hembra, respectivamente;  $P = 0.08$ ), una explicación radica en que en ganado Holstein existe un dimorfismo sexual en el peso al nacimiento (Carrera et al., 2019; Atashi et al., 2012). Los machos presentan mayor peso-talla, lo que predispone a un mayor riesgo de distocia y enfermedades puerperales (Atashi et al., 2012; Holden y Butler, 2018), las cuales impactan negativamente a la TC1S. Referente al efecto de días en leche, el 35% de probabilidad de quedar gestante se

alcanza a los 52 días en leche. Conforme transcurren los días en leche, la TC1S aumenta hasta llegar a un máximo a los 74 días para posteriormente disminuir. El hecho de que las vacas muestren una menor fertilidad inicial se explica porque tal vez fueron inseminadas cuando aún no se completaba totalmente el puerperio (Inchaisri et al., 2011). Por otra parte, referente a la menor fertilidad en el extremo opuesto, las vacas que son servidas muy tarde pudieran haber sido vacas que presentaron problemas puerperales con retraso en el primer servicio y por lo tanto mostrar una fertilidad disminuida (Gilbert et al., 2005).

Los estimadores para modelar los efectos lineal y cuadrático de días en leche y número de lactación en modelos múltiples se muestran en Cuadro 1 y Figura 1. Estos resultados indican que las vacas de segunda lactación tienen el mejor desempeño mientras que las de tercera lactación o más son las de menor TC1S.

La TC1S a 35% se alcanza a los 48 y 43 días para 1, 2 lactaciones, respectivamente. Un resultado inesperado es que las vacas de 3+ lactaciones nunca alcanzan la meta de 35%. Esto último puede ser explicado porque las vacas en esta categoría tienen un mayor desgaste y una mayor prevalencia de enfermedades en el periodo post parto (hipocalcemia, cetosis, balance de energía negativo, retención de membranas fetales, metritis) (Chebel et al., 2004; Dubuc y Denis-Robichaud, 2017), lo cual disminuye su fertilidad. Finalmente, los estimadores para modelar los efectos lineal y cuadrático de días en leche y sexo de la cría en modelos múltiples se muestran en Cuadro 1 y Figura 1. La TC1S a 35% se alcanza a los 47 y 59 días para parto de hembra y macho, respectivamente. Estos resultados se deben al dimorfismo sexual de peso al nacimiento discutido previamente (Carrera et al., 2019; Atashi et al., 2012).



**Figura 1.** Proyección de la tasa de concepción a primer servicio (a partir de la probabilidad de quedar gestante) por efecto de días en leche, número de lactación (izquierda) y sexo de la cría (derecha).

**Cuadro 1. Estimadores de los parámetros incluidos en los modelos de regresión logística múltiples.**

Mod	Parámetro	Estimador	Chi2	P	Exp(Est)
1	Intercepto	-2.7181	4.3256	0.0375	0.066
	DEL1SER	0.0625	3.0799	0.0793	1.065
	DEL1SER2	-0.00042	3.1689	0.0751	1
2	Intercepto	-2.729	4.279	0.039	0.065
	DEL1SER	0.063	3.041	0.081	1.065
	DEL1SER2	0.000	3.128	0.077	1.000
	LACT 1	0.064	0.557	0.455	1.066
	LACT 2	0.190	3.634	0.057	1.209
3	Intercepto	-3.006	4.692	0.030	0.050
	DEL1SER	0.070	3.425	0.064	1.072
	DEL1SER2	0.000	3.538	0.060	1.000
	HEMBRA	0.123	3.018	0.082	1.130

*Mod, modelo; DEL1SER, Días en leche a primer servicio efecto lineal; DEL1SER2, Días en leche a primer servicio efecto cuadrático; LACT 1, Lactación 1; LACT2, Lactación 2; HEMBRA, Sexo de la cría hembra.*

## Conclusión

En conclusión, el efecto de días en leche es cuadrático y el número de lactación y el sexo de la cría impactan la TC1S. Una posible implicación de los resultados es que, para mejorar indicadores de desempeño como días abiertos, el PEV pudiera ser establecido con base en paridad o sexo de la cría.

## Literatura citada

Atashi, H., Abdolmohammadi, A., Dadpasand, M., Asaada, A. (2012). Prevalence, risk factors and consequent effect of dystocia in

Holstein dairy cows in Iran. Asian-Australas J. Anim Sci. 25: 447-451.

Britt, J., Thomas, R., Speer, N., Hall, M. (2003). Efficiency of converting nutrient dry matter to milk in Holstein Herds.

J. Dairy Sci. 86: 3796-3801.

Caraviello, D., Weigel, K., Craven, M., Gianola, D., Cook, N., Nordlund, K., Wiltbank, M. (2006). Analysis of reproductive performance of lactating cows on large dairy farms using machine learning algorithms. J. Dairy Sci. 89: 4703-4722.

Carrera, J., Marmolejo, C., Escárcega, M., Itzá, M., Orozco, E., Pérez, E., Quintero, J., Quezada, A. (2019). Risk factors associated with

- retained placenta in dairy cattle in northern Mexico. *Ecosist. Recur. Agropec.* 6: 573-579.
- Chebel, R., Santos, J., Reynolds, J., Cerri, R., Juchem, S., Overton, M. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 239-255.
- Coffey, M., Hickey, J., Brotherstone, S. (2006). Genetic aspects of growth of Holstein-Friesian dairy cows from birth to maturity. *J. Dairy Sci.* 89: 322-329.
- Dubuc, J., Denis-Robichaud, J. (2017) A dairy herd-level study of postpartum diseases and their association with reproductive performance and culling. *J. Dairy Sci.* 100: 3068-3078.
- Gilbert, R., Shin, S., Guard, C., Erb, H., Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 64: 1879-1888.
- Hernández, J. (2016). *Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros.* Primera Edición. Ciudad de México. Holden, S., Butler, S. (2018). Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal.* 12:97-103.
- Inchaisri C., Jorritsma R., Vos P., Van der Weijden G., Hogeveen H. (2011). Analysis of the economically optimal voluntary waiting period for first insemination. *J. Dairy Sci.* 94: 3811- 3823.
- Kim, I. H., & Jeong, J. K. (2019). Risk factors limiting first service conception rate in dairy cows and their economic impact. *Asian-Australasian journal of animal sciences.* 32: 519-526.
- Lokhorst, C., De Mol, R., Kamphuis, C. (2019). Invited review: Big Data in precision dairy farming. *Animal.* 13: 1519-1528.
- Martins, T. & Borges, A. (2012). Avaliação uterina em vacas durante o puerpério Uterine monitoring cows during the puerperium. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 35: 433-443.
- Miller, R., Norman, H., Kuhn, M., Clay, J., Hutchinson, J. (2007) Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in Dairy Herd improvement herds. *J. Dairy Sci.* 90: 1594:1606.
- Núñez, G., Díaz, E., Espinosa, J., Ortega, L., Hernández, L., Vera, H., Román, H., Medina, M., Ruiz, F. (2009). Producción de leche de bovino en el sistema intensivo INIFAP. Libro técnico número 23. Veracruz, México.
- Potter, T., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P., Sheldon, M. (2010). Risk factors for clinical endometritis in post partum dairy cattle. *Theriogenology.* 74: 127-134.
- SADER. (2020, Diciembre 3). El reto de la autosuficiencia lechera [Video]. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=S0JKUr2hfFY&t=495s>
- Schuenemann, G., Nieto, I., Bas, S., Galvao, K., Worman, J. (2011). Assessment of calving progress and reference times for obstetric intervention during dystocia in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 5494-5501.
- Stangaferro, M., Wijma, R., Masello, M., Thomas, M., Giordano, O. (2017). Extending the duration of the voluntary waiting period from 60 to 80 days in cows that received timed artificial insemination after the Double-Ovsynch protocol affected the reproductive performance, herd exit dynamics, and lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101: 717- 735.

# Análisis del efecto de la hiperprolactinemia inducida por levosulpirida sobre la progresión del edema macular diabético

*Núñez-Amaro CD*

*Robles-Osorio L*

Doctorado en Ciencias biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, UAQ.

*García-Franco R*

*Mira-Lorenzo X*

*Ramírez-Neria P*

*López-Star E*

Instituto Mexicano de Oftalmología, I.A.P.

*Martínez de la Escalera G*

*Carmen Clapp*

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, Instituto of Neurobiología, UNAM.



# Introducción

Entre las complicaciones microvasculares de la diabetes mellitus se encuentran la retinopatía diabética (RD) y el edema macular diabético (EMD), microangiopatías que constituyen las principales causas de ceguera en personas entre los 20 y los 65 años de edad (Santana-Pérez F., et al. 2013).

La etiología del EMD es multifactorial, sin embargo, su causa principal es la hiperglucemia crónica que, al producir la muerte del tejido vascular de la retina, ocasiona una vasopermeabilidad excesiva, edema, hemorragias e isquemia incluyendo a la mácula (Moss-SE., et al. 1988). La manifestación clínica más importante del EMD es la disminución visual central, asociada a una deformación de las imágenes, que puede aparecer en estadios muy tempranos de la enfermedad (Bresnick-GH. 1986). Los abordajes terapéuticos actuales (fotocoagulación con láser y terapia antiangiogénica intravítrea) son efectivos en el 50-70% de los casos, pero solo son aplicables en los estadios avanzados del padecimiento. Estas intervenciones generalmente son repetitivas, tienen baja eficacia para revertir las lesiones y pueden producir efectos secundarios, por lo que es deseable contar con tratamientos más efectivos y menos invasivos. (Fouces-Gutiérrez Y., et al. 2007).

Estudios preclínicos sugieren que la hormona prolactina (PRL) tiene potencialidad clínica contra el EMD en virtud de que es convertida proteolíticamente a vasoinhibinas, una familia de fragmentos de PRL que inhiben la vasopermeabilidad excesiva en la retina de ratas diabéticas (Triebel et al 2011).

En este proyecto estamos desarrollando un protocolo clínico (registrado en Clinical Trials ID:NCT03161652) que investiga una nueva terapia contra el EMD que se basa en elevar los niveles circulantes de la PRL con la droga levosulpirida, un antagonista de los receptores de dopamina D2 utilizado en la práctica clínica por sus efectos procinéticos y que tiene como efecto secundario producir hiperprolactinemia. La levosulpirida aumenta los niveles séricos de PRL gracias al bloqueo de los receptores dopaminérgicos localizados en la hipófisis (Mucci-A., et al. 1995), cuenta con un buen perfil de seguridad y se administra vía oral (Serra-J. 2010).

Este estudio permitirá explorar si la hiperprolactinemia inducida mediante el fármaco levosulpirida representa un tratamiento capaz de proteger contra el EMD y de coadyuvar a la eficacia del tratamiento antiangiogénico convencional de este tratamiento.

## Métodos

Se están reclutando hombres y mujeres de 40 a 69 años de edad que presentan EMD sin características de alto riesgo ni complicaciones oculares tales como glaucoma, catarata, rubeosis o agujero macular y que cumplen con los criterios bioquímicos establecidos (no presentar hiperprolactinemia previa al tratamiento, niveles elevados de la hormona liberadora de la tiroides, daño hepático y una tasa de la filtración glomerular mayor a 30 ml/min). Se cuenta con la aprobación del estudio por parte del Comité de Investigación y Ética del IMO y del

Instituto de Neurobiología de la UNAM. Todos los pacientes reclutados deben firmar su consentimiento informado antes de ingresar en el estudio que inicia con la obtención de su historia clínica, las determinaciones propias del estudio de acuerdo al protocolo (tomas de sangre periférica, pruebas de agudeza visual, tomografía óptica coherente (OCT) y fluroangiografía) y la entrega del medicamento (levosulpirida o de placebo). En las determinaciones clínicas se evalúa en condiciones de ayuno la concentración de PRL sérica, así como los niveles de glucosa, creatinina, hormona estimulante del tiroides (TSH), transaminasa glutámico-pirúvica (TGP) y hemoglobina glicosilada (HbA1c). La

presencia de DM es confirmada por médicos especialistas en medicina interna y el grado de EMD por oftalmólogos utilizando los criterios internacionales convencionales.

La historia clínica general debe considerar los factores de inclusión y exclusión y registrar: historia previa de diabetes mellitus, tiempo de diagnosticada la diabetes, tipo de medicación hipoglucemiante y presencia de complicaciones asociadas a la diabetes, el peso, la talla y valores sanguíneos de HbA1c. La historia clínica oftalmológica debe incluir información sobre cirugías oftalmológicas previas, tratamientos con láser, inyecciones intraoculares y otras enfermedades oculares, etc.

### GRUPOS DE PACIENTES

Grupo	Tratamiento	Participantes	EMD	Tiempo de tratamiento
1 EMD	Placebo	18	Si	8 semanas
2 EMD	Levosulpirida	18	Si	8 semanas

*El número de pacientes (n) es el mínimo que se estima podrá permitir resultados claros debido a las variaciones esperadas en la población.*

Se lleva a cabo la formación de 2 grupos de pacientes para poder estudiar los principales cambios causados por el EMD.

En estos grupos se evalúan cambios en el EMD a través de determinar la agudeza visual y medir por OCT el grosor de la fóvea ( $\approx 300 \mu\text{m}$ ), el volumen de la mácula y la imagen de la retina. La revisión clínica, estudios oftalmológicos (agudeza visual, OCT, fundoscopia) y bioquímicos (PRL, glucosa y creatinina séricas) serán lle-

vados a cabo en el IMO cada 2 semanas, hasta cumplir las 8 semanas de tratamiento. Además, antes de iniciar (semana 0) y después de terminar (semana 8) el estudio se realiza una fluorangiografía.

# Resultados y discusión

Hasta el día de hoy se han reclutado un total de 35 pacientes, de los cuales 31 ya han concluido el estudio y 4 se encuentran actualmente en tratamiento (Figura 1). A continuación, se

presentan los resultados de las evaluaciones correspondientes a agudeza visual, volumen macular y grosor foveal de estos 31 pacientes. Estimamos que solo faltan por captar 1 paciente más para poder generar un análisis que permita obtener conclusiones certeras.

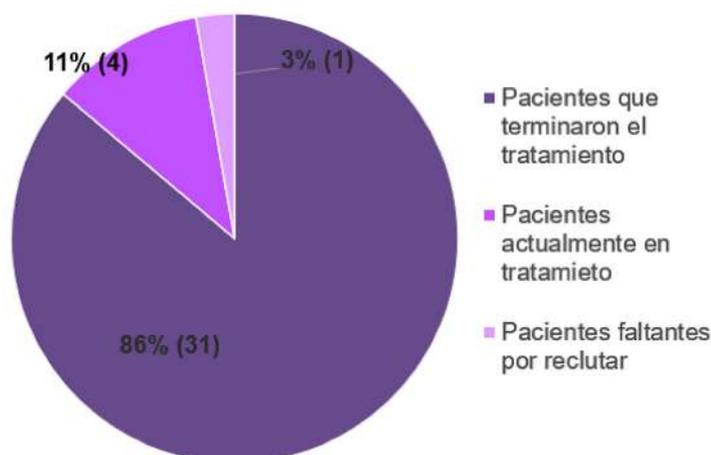


Figura 1. Número de pacientes incluidos actualmente en el estudio, actualmente en tratamiento y faltantes.

En el Cuadro 1 se muestran los principales aspectos demográficos y bioquímicos de los primeros 29 pacientes.

**Cuadro 1. Características clínicas y demográficas de los grupos de estudio. Valores expresados en promedio  $\pm$  error estándar.**

	Previo al tratamiento			Posterior al tratamiento		
	Placebo (n=16)	Levosulpirida (n=13)	p	Placebo (n=16)	Levosulpirida (n=13)	p
<b>Género</b>	17.2% fem (5) 37.9% masc (11)	17.2% fem (5) 27.5% masc (8)				
<b>Edad (años)</b>	61.31 $\pm$ 1.91	58.46 $\pm$ 2.08	0.32			
<b>DM2 (años)</b>	16.03 $\pm$ 2.06	16.62 $\pm$ 2.14	0.84			
<b>HbA1c (%)</b>	8.56 $\pm$ 0.41	8.19 $\pm$ 0.54	0.58	8.11 $\pm$ 0.48	7.36 $\pm$ 0.38	0.25
<b>Glucosa</b>	188.1 $\pm$ 19.27	190.5 $\pm$ 38.22	0.95	162.3 $\pm$ 26.92	183.4 $\pm$ 26.41	0.58
<b>Creatinina</b>	1.20 $\pm$ 0.08	1.28 $\pm$ 0.11	0.55	1.20 $\pm$ 0.07	1.32 $\pm$ 0.15	0.45
<b>TGF (mL/min)</b>	64.45 $\pm$ 4.35	62.86 $\pm$ 5.89	0.82	62.40 $\pm$ 3.68	70.38 $\pm$ 11.35	0.49
<b>PRL sérica (ng/mL)</b>	7.03 $\pm$ 0.67	7.30 $\pm$ 0.84	0.80	8.55 $\pm$ 1.21	150.5 $\pm$ 32.38	<0.0001

## Agudeza visual

Es importante mencionar que, a partir de este punto, los resultados se expresarán por número de ojos y no por número de pacientes, ya que es lo convencional en los estudios oftalmológicos debido a que los ojos de un mismo paciente se consideran independientes. Así, fue frecuente que solamente uno de los dos ojos de cada paciente ingresó al estudio. El ojo descartado obedeció razones múltiples que incluyeron: no presentar padecimiento (EMD) o presentar alteraciones tales como catarata, rubeosis, membrana epirretiniana, neovascularización o hemovítreo. Los ojos aparentemente sanos se utilizaron para construir un grupo de referencia (denominado “sin EMD”) siempre y cuando el tratamiento fue con placebo. Los ojos “aparentemente sanos” del grupo tratado con levosulpirida no se consideraron en el estudio.

En la Figura 2 se muestra la evaluación de la agudeza visual a través de determinar el número de letras visualizadas por cada ojo mediante la cartilla de Snellen. Hasta este momento y con esta cantidad de ojos, podemos observar una diferencia significativa entre el grupo de ojos sin EMD ya aquellos con EMD tratados con placebo y levosulpirida al final del tratamiento (Figura 2A). Cuando se graficó el cambio de agudeza visual para cada grupo antes y después del tratamiento (Figura 2B), se observó una mayor dispersión hacia mayor agudeza visual en el grupo tratado con levosulpirida que en el placebo, pero esta tendencia no fue estadísticamente significativa ( $P=0.203$ , ANOVA una vía y prueba Tukey's).

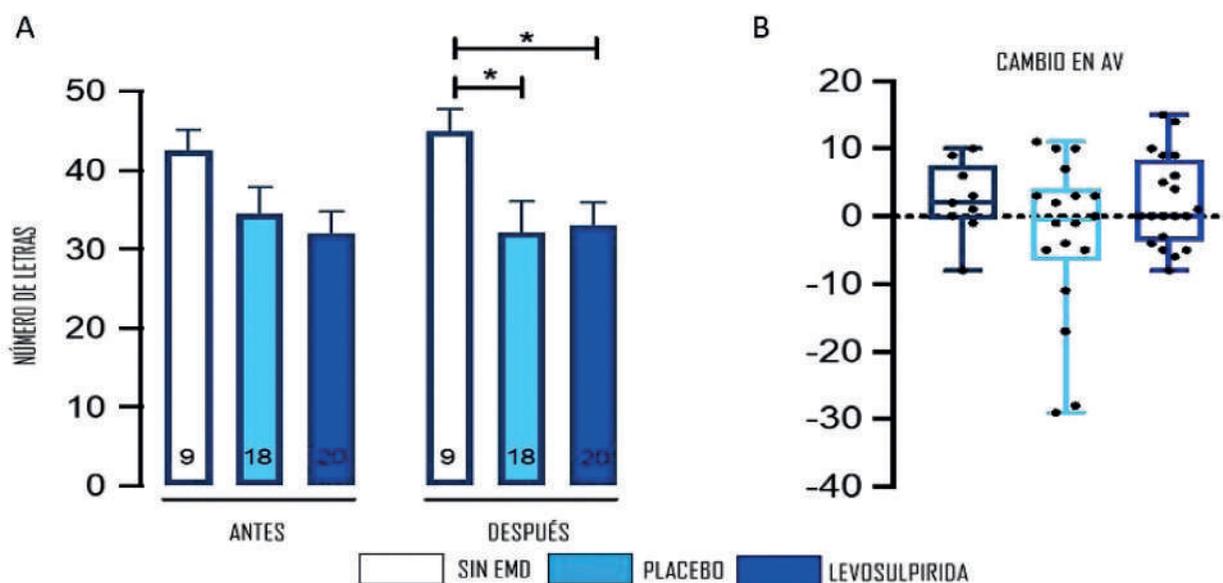


Figura 2. Número de letras observadas en la cartilla de Snellen que evalúa la agudeza visual. A) Comparación del número de letras observadas entre grupos de estudio antes (semana 0) y después (semana 8) de iniciar el tratamiento. B) Cambio en el número de letras observadas entre el inicio y final del tratamiento para cada grupo. En A, los valores son medias  $\pm$  errores estándar. En B, se figura la media y el rango de los valores alcanzados en cada grupo. Dentro de las barras se indica el número de ojos evaluados.

## Volumen macular

El volumen macular (expresado en  $\text{mm}^3$ ) corresponde al área total de la mácula y es una determinación del OCT. Este parámetro es analizado al inicio (semana 0) y final del tratamiento (semana 8) como se indica en la Figura 3.

Si bien para este análisis no se observaron diferencias significativas al Figurar los valo-

res de volumen macular de los 3 grupos antes y después del tratamiento (Figura 3A), cuando se graficó el cambio de volumen macular para cada grupo antes y después del tratamiento (Figura 3B), se observó una mayor dispersión hacia un menor volumen macular en el grupo tratado con levosulpirida que en el placebo, pero esta tendencia no fue estadísticamente significativa ( $p=0.223$ , ANOVA una vía y prueba Tukey's).

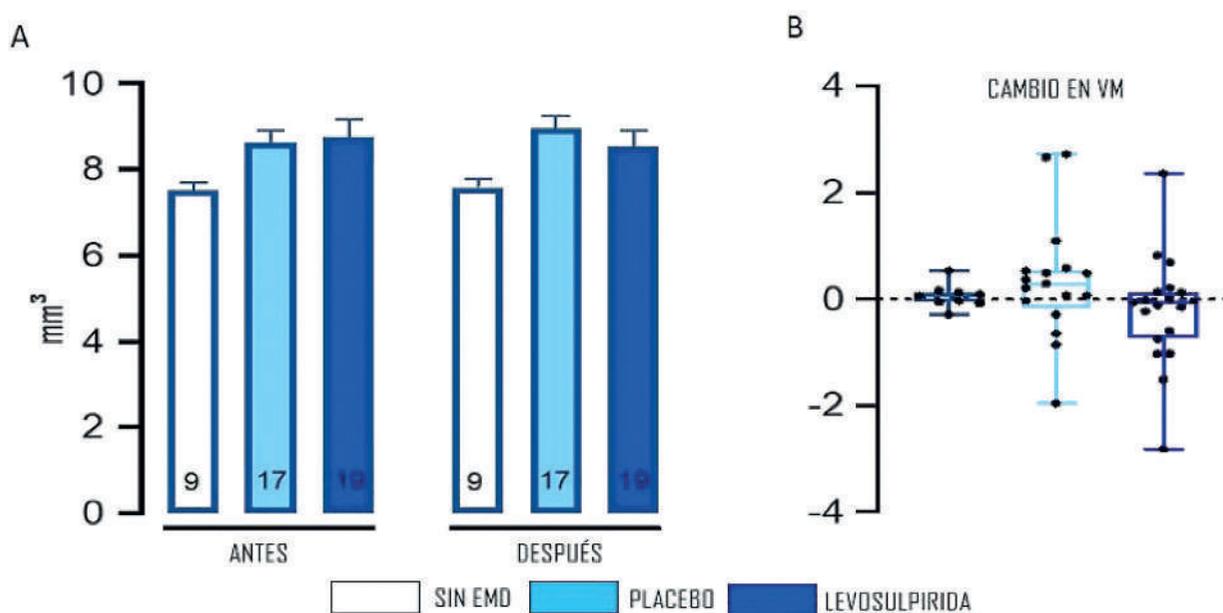


Figura 3. Volumen macular ( $\text{mm}^3$ ) registrado mediante OCT. A) Comparación del volumen macular entre grupos de estudio antes (semana 0) y después (semana 8) de iniciar el tratamiento. B) Cambio en el grosor de la fóvea entre el inicio y final del tratamiento para cada grupo. En A, los valores son medias  $\pm$  errores estándar. En B, se figura la media y el rango de los valores alcanzados en cada grupo. Dentro de las barras se indica el número de ojos evaluados.

# Grosor foveal

En la siguiente figura se compara el grosor foveal (expresado en micras) que corresponde a la acumulación de líquido en el centro de la mácula, determinado mediante OCT. El grosor foveal fue mayor antes del tratamiento en el grupo que asignado para recibir levosulpirida ( $p=0.018$  ANOVA de dos vías y Tuckey's) que en el grupo de ojos sin EMD (Figura 4A), lo cual sugiere una discrepancia en la severidad del

padecimiento entre ambos grupos con EMD. El hecho de que al final del tratamiento se pierda esta diferencia ( $p=0.215$ ) sugiere un posible beneficio de dicho tratamiento. En apoyo a esta posibilidad, cuando se graficó el cambio de grosor macular para cada grupo antes y después del tratamiento (Figura 4B), se observó una mayor dispersión hacia un menor grosor macular en el grupo tratado con levosulpirida que en el placebo que fue cercana a la significancia ( $p=0.071$ , ANOVA una vía y pruebaTukey's).

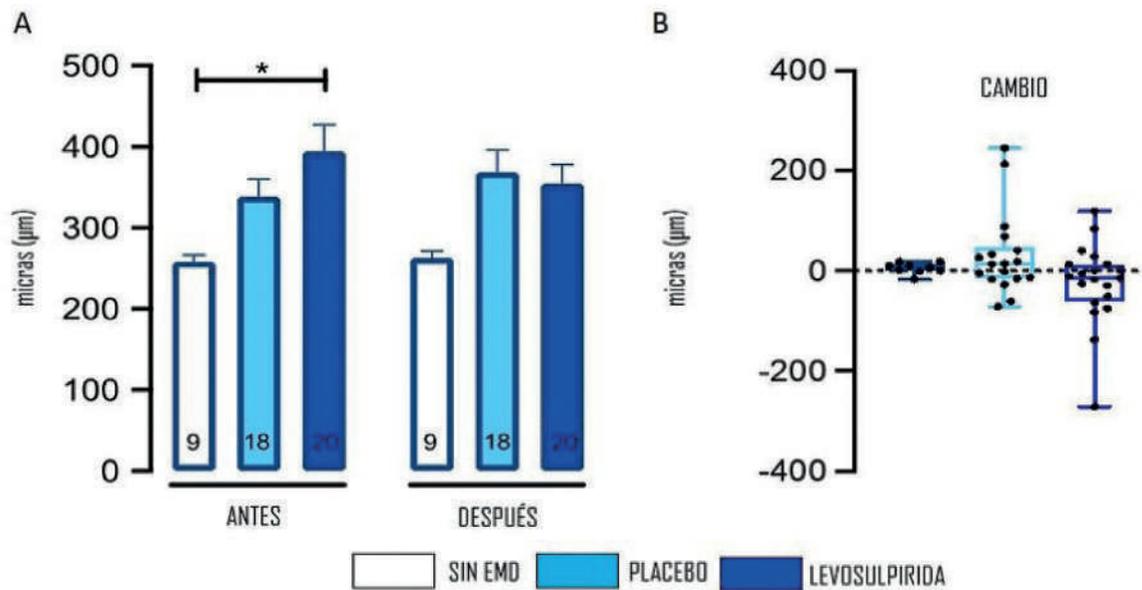


Figura 4. Grosor de la fovea (micras) registrado mediante OCT. A) Comparación del grosor de la fovea entre los grupos de estudio antes (semana 0) y después (semana 8) de iniciar el tratamiento.

B) Cambio en el grosor de la fovea entre el inicio y final del tratamiento para cada grupo. En A, los valores son medias  $\pm$  errores estándar. En B, se Figura la media y el rango de los valores al-

canzados en cada grupo. Dentro de las barras se indica el número de ojos evaluados.

# Conclusiones preliminares

El estudio aún se encuentra en curso y el análisis reportado es aún preliminar en tanto que no se ha reunido en número programado de pacientes. Sin embargo, los resultados observados son prometedores de que el tratamiento con levosulpirida pudiera ser eficaz en el EMD.

## Literatura Citada

- Alegría-Ezquerro E., Castellano-Vázquez J.M., Alegría-Barrero A. 2008. Obesity, metabolic syndrome and diabetes: cardiovascular implications and therapy. *Revista Española de Cardiología*; 61(7): 752-764.
- Santana-Pérez F., Maciquez-Rodríguez J.E., Licea-Puig M.E., Díaz-Enamorado Y. 2013. Relation between prolactin and diabetic retinopathy. *Revista Cubana de Endocrinología*; 24(1): 94-102.
- Antonetti DA., Barber AJ., Bronson SK., Freeman WM., Gardner TW., Jefferson LS., Kester M., Kimball SR., Krady JK., LaNoue KF., Norbury CC., Quinn PG., Sandirasegarane L., Simpson IA., Group JDRC. 2006. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*. 55(9):2401-2411.
- Fouces Gutiérrez Y., Galindo Reymond K., Navarro Scott M., Díaz Valdivia H. (2007) Nuestra experiencia en el tratamiento de la retinopatía diabética confotocoagulación en la Misión Milagro, en Jagüey Grande. *MEDISAN*;11(2).
- Poulsen JE. 1953. Recovery from retinopathy in a case of diabetes with Simmonds' disease. *Diabetes*. 2(1):7-12.
- Mooradian AD., Morley JE., Billington CJ., Slag MF., Elson MK., Shafer RB. 1985. Hyperprolactinaemia in male diabetics. *Postgrad Med J*. 61:11-4.
- Mucci A., Nolfi G., Maj M. 1995. Levosulpiride: a review of its clinical use in psychiatry. [Pharmacol Res](#). 31(2):95-101.
- Serra J. 2010. Levosulpiride in the management of functional dyspepsia and delayed gastric emptying. [Gastroenterol Hepatol](#). 2010 Oct;33(8):586-90.
- Triebel-J., Macotela-Y., Martínez-de la Escalera G., Clapp-C. 2011. Prolactin and vasoinhibins: Endogenous players in diabetic retinopathy. *Life*; 63(10): 806-810.
- Harter M, Balarac N, Pourcher P, Koslowski JM, Krebs B, Ramaioli A. 1976. Diabetic retinopathy and prolactin. *Lancet*. 2:961-2.
- Arnold-E., Rivera-J.C., Thebault-S., Moreno-Páramo D., Quiroz-Mercado H., Quintana-Stéphano A., Binart- N., Martínez-de la Escalera G., Clapp-C. 2010. High levels of serum prolactin protect against diabetic retinopathy by increasing ocular vasoinhibins. *Diabetes*. 59: 3192-3197.
- Wilkinson CP., Ferris FL., Klein RE., Lee PP., Agardh CD., Davis M., Dills D., Kampik A., Pararajasegaram R., Verdager JT. 2003. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 110, 1677-1682.
- Nunez-Amaro CD., Moreno-Vega AI., Adan-Castro E., Zamora M., Garcia-Franco R., Ramirez-Neria P., Garcia-Roa M., Villalpando Y., Robles JP., Ramirez Hernandez G., Lopez M., Sanchez J., Lopez-Star E., Bertsch T., Martínez de la Escalera G., Robles-Osorio ML., Triebel J., Clapp C. Levosulpiride increases the levels of prolactin and antiangiogenic vasoinhibin in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Trans Vis Sci Tech*. 2020;9(9):27. <https://doi.org/10.1167/tvst.9.9.27>

# Análisis de la composición y efecto del consumo de hoja de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en ratas Wistar con obesidad y/o diabetes mellitus

*Ocampo Anguiano, P.V.*

*Ahumada Solórzano, S.M.*

*García Gasca T.*

*Ferriz Martínez, R.A.*

*Escobar García, K.*

*y Luna Moreno A.D.*

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

La prevalencia de obesidad en México se ha incrementado, el 75% de los adultos tienen sobrepeso u obesidad y se considera un factor de riesgo para otras enfermedades crónicas, entre ellas la diabetes que es la 2ª causa de muerte en el país 1. La causa principal a nivel mundial del sobrepeso y la obesidad es el desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético 2.

En México uno de los alimentos más consumidos es el frijol, es el 2do. cultivo que se produce en mayor volumen en el país 3. Se estima que por cada hectárea de frijol se genera alrededor de 650kg de HF. En diversas zonas del país, se acostumbra el consumo de “quelites” u hojas tiernas de plantas comestibles, se sabe que se consumen las hojas tiernas del frijol *Phaseolus vulgaris* (HF), conocidas como cogollitos de frijol 4. Se sabe que las plantas pertenecientes al grupo de los quelites contienen compuestos fenólicos que se reconocen por su capacidad antioxidante 5. Por otro lado, otro de los compuestos bioactivos presentes en las hojas es la fibra, su consumo se asocia con efectos benéficos sobre la obesidad, la hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y dislipidemias 6. Los efectos positivos del consumo adecuado de fibra dietética, son asociados a la actividad directa que tiene la fibra o a los productos de su fermentación, ácidos grasos de cadena corta (AGCC) acetato, propionato, butirato 7.

Sobre la calidad nutricional de la HF, en un estudio previo se analizó el contenido bromatológico en la HF *Phaseolus vulgaris* L. de la variedad Eugenia, indicando que contiene un alto porcentaje de fibra y de proteína, así como la

presencia de minerales, además de compuestos antioxidantes como son los fenoles, antocianinas y flavonoides 8.

Considerando lo anterior, se pretende encontrar la relación que existe entre el consumo de HF y una dieta hipercalórica en ratas Wistar macho alimentadas con una dieta alta en fructosa y manteca de cerdo. De igual forma, estamos interesados en determinar si la HF tiene un papel en evitar la progresión de diabetes mellitus tipo 2 inducida con STZ.

## Metodología

### *Características de la HF.*

La planta de frijol *Phaseolus vulgaris* L. variedad Eugenia se obtuvo por sembradío en campo abierto. Las hojas se cortaron y se secaron hasta peso constante y se molió. El polvo de HF se incorporó en la dieta de los grupos experimentales y se realizó con ella el análisis químico proximal.

### *Caracterización bromatológica de la HF.*

La HF se analizó siguiendo las técnicas descritas en el manual de Hernández Martínez et al., 2000 con las adaptaciones pertinentes. Se determinó la humedad, las cenizas, la proteína cruda y el extracto etéreo, así como la fibra por diferentes técnicas, las demás determinaciones se realizaron con las técnicas establecidas en el laboratorio de nutrición animal 9.

## *Diseño experimental animal.*

Los grupos experimentales se formaron con 11 ratas Wistar macho de 6 S de edad, peso aproximado de 150-180 g (Bioterio INB-UNAM Campus Juriquilla, Qro). Los animales se alojaron en jaulas estándar con cama sanitaria de viruta estéril y bajo condiciones controladas de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), humedad relativa ( $60 \pm 5 \%$ ) y un ciclo de 12 h de luz/oscuridad con alimento y agua ad libitum con limpieza de las jaulas cada tercer día.

Los animales se distribuyeron en seis grupos de manera aleatoria. Los grupos experimentales fueron: control (C), control + HF (CHF), dieta hipercalórica (H), dieta hipercalórica + HF (HHF), diabetes inducida (D) y diabetes inducida + HF (DHF). Este trabajo se realizó en dos secciones, 7 y 14 S (bloque 1 y 2, respectivamente).

La diabetes se indujo con la combinación de dieta hipercalórica (H) y la administración, a la 3er semana de consumir H, de una dosis única de STZ (40 mg/kg) vía intraperitoneal. El grupo con diabetes inducida (D) se conformó por los animales que presentaron glucosa en sangre mayor a 200 mg/dl a la semana después de la administración del fármaco.

## *Diseño de dietas para los animales experimentales.*

El alimento base en las dietas fue Rodent Lab Chow 5001. En la dieta H, se incorporó manteca decerdo y fructosa para incrementar el aporte de energía, lípidos y modificar la fuente de hi-

dratos de carbono. Las dietas con HF (CHF, HHF y DHF) se prepararon adicionando 10% de polvo de HF al alimento molido. Previo a comenzar con la dieta correspondiente los animales estuvieron 1 semana en adaptación al alimento base en polvo.

## *Análisis y determinaciones en los animales*

### **1. Composición corporal**

En el primer bloque (7 S) se registró de manera semanal el peso de los animales. La ingesta de alimento, consumo de agua, así como excreción de heces y orina, se cuantificaron colocando a los animales en una caja metabólica por 24h. Además, para conocer la distribución de la grasa corporal, en la última semana, previo a la eutanasia, los animales fueron analizados por resonancia magnética (LANIREN INB- UNAM, Campus Juriquilla, Qro).

### **2. Glucosa**

Durante el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre, ésta se midió previo a la administración de STZ y 3 días después para corroborar el incremento en los animales del grupo con diabetes inducida (D). Previo a la eutanasia, realizamos una curva de tolerancia a la glucosa con administración intraperitoneal. Además se analizó el nivel de glucosa después de eutanasia en suero.

### **3. Eutanasia**

La eutanasia se llevó a cabo por decapitación, posterior a la eutanasia, se colectó sangre y el

suero fue obtenido por centrifugación a 3000 rpm por 20 min y se almacenó en alícuotas a -20°C hasta su análisis.

#### 4. Perfil lipídico

El perfil de lípidos (colesterol, triglicéridos y lipoproteínas) se determinaron en suero posterior a la eutanasia, utilizando técnicas colorimétricas.

### *Análisis estadístico*

Los resultados se presentaron como la media  $\pm$  error estándar (SE). El análisis de varianza o ANOVA se usó para determinar diferencias significativas entre los grupos y se aplicó la prueba post hoc Tukey ( $p \leq 0.05$ ). El programa estadístico para los gráficos fue GraphPad Prism 6 y SPSS Statistical Software versión 18.0.

## Resultados y discusión

### *Composición de la HF*

El análisis bromatológico en la hoja de frijol demostró que constituye una fuente de proteína (24.22g/ 100g), de fibra dietética total (24.08g/100g), fibra detergente neutra (28.14g/100g) y contenido mínimo de lípidos (1.33g/100g). Un estudio previo coincide con nuestros resultados respecto a que es una fuente importante de fibra y proteína, siendo menor el porcentaje de fibra en nuestro estudio alrededor del 10%, sin diferencia significativa 10.

### *Consumo de alimento y energía en los animales*

Los datos presentados, indican que el consumo de alimento entre grupos no se ve afectado por el tipo de dieta durante las primeras 12 S de experimentación. Un estudio en ratas Wistar macho durante 20 S con dieta alta en grasa y fructosa, mostró que las ratas que consumían esta dieta, ingerían menos alimento (g), en comparación con el grupo control, resultando en que no hubiera diferencia significativa en peso durante las primeras S 11. En relación al consumo de alimento, D consumió más que C y CHF a partir de la semana 7 de experimentación, cabe destacar que aunque fue el grupo con mayor consumo de alimento en varias S, esto no se reflejó en incremento de peso. El grupo DHF consumió cantidades similares de alimento, sin embargo, fue el grupo que incrementó menos su peso, por lo que la inducción de diabetes tuvo efecto sobre el incremento de peso. Entre los síntomas característicos de la diabetes se encuentran la pérdida de peso, a lo que podemos asociar con los resultados obtenidos 12.

### *Peso corporal y percentiles*

Nuestros resultados reportan que al utilizar diferentes tipos de dietas con y sin HF y con diferente aporte energético, el grupo H tuvo mayor incremento de peso en relación a los demás grupos, lo que se asocia con el aporte energético de la dieta, cabe mencionar que a pesar de que HHF también aporta mayor cantidad de energía por gramo de alimento, en relación con el grupo C y CHF, no mostró diferencia signifi-

cativa en peso, por lo que estos datos apuntan a que la inclusión de HF podría tener efecto en el mantenimiento de peso a lo largo del tiempo. Nuestros resultados contrastan con lo reportado en un estudio anterior, donde se evaluó el efecto de la inclusión de HF en un modelo con dieta obesogénica, la ingesta de alimento se restringía a un periodo de 7 horas/día, mientras en nuestro estudio el acceso al alimento fue a libre demanda 8.

Se consideró analizar los percentiles en los que se encontraron los animales en relación a su peso y edad a partir de lo publicado por Bolaños M. y cols. 2013<sup>13</sup>. Encontramos que en las primeras 6 S hay diferencia significativa en el promedio de percentiles, mayor en el grupo H (obesidad) que en los demás grupos, esto comprueba que de acuerdo a la edad y peso de los animales el grupo H con mayor aporte energético por gramo de alimento desarrolló obesidad. Estudios previos reportan el uso de dietas altas en hidratos de carbono, donde se utiliza sacarosa o fructosa, en periodos de 2 a 21 S, produciendo, obesidad y cambios en triglicéridos, glucosa e insulina, principalmente 14.

### *Consumo de agua, excreción de orina y heces*

La excreción de heces en 24h es mayor con las dietas C y CHF, mientras que los grupos con dieta hipercalórica (H, HHF, D y DHF) no son diferentes entre sí. Lo anterior puede deberse a los componentes de la dieta (fructosa y manteca de cerdo) que no aportan fibra a la dieta, en nuestro caso procuramos utilizar salvado de

trigo para homologar la cantidad de fibra entre los grupos controles y experimentales, estudios reportan que a partir de la adición de fibra externa como celulosa se homologa la cantidad de fibra en las diferentes dietas 15.

Los grupos D y DHF, posterior a la administración de STZ para la inducción de diabetes, reportan mayor consumo de agua y eliminación de orina. Un estudio donde se administró sacarosa al 40% en solución de manera crónica a ratas (durante 180 días), mostró un mayor consumo de agua en relación con el grupo control<sup>16</sup>, lo que coincide con nuestros resultados. La polidipsia y poliuria son síntomas característicos de la diabetes<sup>12</sup>, que fueron observados en los grupos D y DHF.

### *IMC e índice de Lee*

Los datos obtenidos, no mostraron diferencias en el IMC e índice de Lee. En estudios en ratas donde se evalúa la composición corporal con obesidad, se relacionan valores más altos de peso, IMC e índice de Lee en los grupos patológicos de igual manera que el tiempo de tratamiento es mayor, 17 en este estudio no encontramos cambios.

### *Tejido adiposo*

Los datos obtenidos respecto a la cantidad de tejido adiposo analizado por RM, indican que la dieta H favorece el aumento en la cantidad de tejido adiposo visceral y subcutáneo, mientras que la inclusión de HF previene una menor acumulación de tejido adiposo. Se ha reportado el uso de RM como una técnica no invasiva en animales vivos para analizar la cantidad de tejido

adiposo y el estado de órganos en modelos con alteraciones metabólicas 18.

### *Perfil glicémico y de lípidos*

Los animales con administración de STZ presentaron glicemias sostenidas mayor a 200mg/dl, en la CTG en la semana 6 de experimentación los grupos D y DHF tuvieron concentraciones de glucosa más altas que los demás con respecto a la glucosa basal. Además D tuvo valores más altos en los demás tiempos de la curva en relación con C y CHF. D y DHF presentan desregulación propia de la diabetes, sin que la HF tenga al parecer un efecto relevante sobre la disminución de hiperglucemia. En el trabajo donde se evaluó el efecto del consumo crónico de sacarosa en solución, se realizó una CTG, encontrando diferencia significativa con el grupo control a los 90 minutos y 120 minutos 16.

### *Parámetros sanguíneos después de la eutanasia*

Al analizar las muestras de suero, no encontramos diferencias significativas entre grupos para parámetros relacionados con el perfil lipídico, respecto a glucosa, los grupos con inducción de diabetes (D y DHF) reportaron concentraciones mayores en relación con los demás grupos. Un estudio donde se evaluó el efecto de un extracto de vainas de frijol en ratas con inducción de diabetes por STZ con 45mg/kg de peso, indicó que el extracto favorece la disminución de glucosa, colesterol y triglicéridos en un periodo de 40 días 19.

## Conclusiones

La HF es una fuente de nutrimentos, alta en fibra y de bajo aporte energético. La dieta (H), produjo en los animales obesidad (percentil >97). Además de generar alteraciones en composición corporal (incremento en el peso y mayor cantidad de tejido adiposo) así como en el perfil glicémico (mayor concentración de glucosa en la CTG).

Por otro lado, la inclusión de HF logró reducir el incremento de peso al administrarse junto con la dieta H (percentil 90) y previno la acumulación de tejido adiposo visceral y subcutáneo.

La combinación de la dieta H con la administración de una dosis única de STZ (40 mg/kg) incrementó el nivel de glucosa basal superior a 200mg/dl, característico de la inducción de diabetes, además los animales presentaron los signos característicos de esta patología (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso).

En conjunto, los resultados de este proyecto nos sugieren que la hoja de frijol puede ser un alimento funcional con valor nutritivo y efecto protector sobre el aumento de peso y acumulación de tejido adiposo, relacionados con obesidad y posiblemente diabetes inducida.

## Literatura citada

- Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Heredia-Hernández O, et al. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19 Resultados Nacionales*. México; 2020.
- Ghebreyesus Adhanom T. OMS 10 datos sobre la obesidad. WHO. 3. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Encuesta Nacional Agropecuaria.
- Linares E, Bye R, Ortega N, Arce AE. *Quelites: Sabores y Saberes, Del Sureste Del Estado de México*. Primera. Ciudad de México: Universidad Autónoma de México; 2017.
- Santiago-Saenz YO, Hernández-Fuentes AD, López-Palestina CU, Garrido-Cauich JH, Alatorre-Cruz JM, Monroy-Torres R. Nutritional importance and biological activity of bioactive compounds from quelites consumed in Mexico. *Rev Chil Nutr*. 2019;46(5):593-605.
- Narro Robles J, Meljem Moctezuma J, Kuri Morales PA, et al. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016)*. México; 2016.
- Corte Osorio LY, Martínez Flores HE, Ortiz Alvarado R. Efecto del consumo de la fibra dietética en la expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutr Hosp*. 2011;26(5):1052-1058.
- Becerril Campos AA, Luna Moreno AD, García Gasca T, Ahumada Solórzano SM. *Prevención Del Riesgo Metabólico En Un Modelo in Vivo Con El Consumo de Quínoa Roja (Chenopodium Berlandieri Spp. Nuttalliae) y Hoja de Frijol (Phaseolus Vulgaris).*; 2018.
- Martínez M de los AH, Barreiro Aguilera A. *Manual para el Análisis Bromatológico y Biológico*. Primera. (Querétaro UAQ). Querétaro, Mexico; 2000.
- Martínez Zavala M, García Gasca T, Mora Avilés M. A. Estudio de la hoja de frijol *Phaseolus vulgaris* como alternativa de hierro biodisponible. 2012.
- Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, Astier J, Landrier JF, Miguel M. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*. 2018;10(10).
- Humphreys A, Bravis V, Kaur A, et al. Individual and diabetes presentation characteristics associated with partial remission status in children and adults evaluated up to 12 months following diagnosis of type 1 diabetes: An ADDRESS-2 (After Diagnosis Diabetes Research Support System-2) study analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;155:107789.
- Cossio-Bolaños M, Gómez Campos R, Vargas Vitoria R, Hochmuller Fogaca RT, Arruda M de. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutr Hosp*. 2013;28(6):2151-2156.
- Machado S, Rocha NBR, Veras AB, Budde H, Rodríguez EM. *Temas Selectos en Neurobiología Molecular e Integrativa*. México; 2017.

Olguin B, Posadas R, Revelant Z, et al. Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Rev Chil Nutr.* 2015;42(1).

Cruz, Morais, Rosa, et al. Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biol Open.* 2020;9(3).

Dias, Madruga, Pintado, et al. Cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.) decrease visceral fat, yet augment glucose in dyslipidemic rats. *PLoS One.* 2019;14(12).

Hwang JH, Choi CS. Use of in vivo Magnetic resonance spectroscopy for studying metabolic diseases. *Exp Mol Med.* 2015;47(2):e139-e139.

Almuaigel MF, Seif MA, Albuali HW, Alharbi O, Alhawash A. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of aqueous extract of *Phaseolus vulgaris* pods in streptozotocin-diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2017;94:742-746.

# Análisis Espacial y Zonificación Agroecológica en la Cuenca La Cañada, Querétaro.

*Pedroza-Meneses, H. I.*

*Hernández-Guerrero, J. A.*

Maestría en Gestión Integrada de Cuencas. Facultad de  
Ciencias Naturales. UAQ.



# Introducción

El Análisis Espacial Multicriterio (AEMC) deriva de un proceso en los SIG para asistir en la toma de decisiones sobre el manejo de los recursos naturales desde una posición informada que contribuye al ordenamiento territorial y la gestión sustentable de los recursos naturales. Para ello se utilizó una forma práctica de analizar las variables al subdividir el área de estudio en fragmentos más pequeños que comparten atributos similares. En este aspecto, el AEMC permite incorporar la opinión de expertos, así como las observaciones en campo y la percepción de los actores sociales. De esta manera es posible reconocer la distribución espacial de los SE y a partir de ello plantear decisiones estratégicas, de tal forma, que los mapas resultantes contribuyen a comunicar la complejidad de los SE y su relación en el territorio.

Se designaron Unidades Ambientales Homogéneas (UAH) desde criterios agroecológicos y sostenibilidad de cuencas. Por su parte, los parámetros de recuperación, conservación y/o producción permitieron seleccionar la información para designar los indicadores que participarían en la Zonificación Agroecológica (ZAE). En México y Latinoamérica la ZAE es una vertiente del análisis espacial de reciente creación, que ha sido aplicada a aspectos de bioproducción de cultivos como maíz, café, sorgo, caña, piña, entre otros, sin embargo, desde el enfoque de la agricultura urbana y periurbana en cuencas hidrográficas, es un aspecto que continúa estudiándose, por tal motivo, se plantea el presente análisis como propuesta met-

odológica para el mapeo de los SE de provisión, las unidades bioproductivas y las unidades de riesgos ambientales.

El objetivo del presente trabajo fue analizar espacialmente la cuenca La Cañada (Querétaro) para la zonificación agroecológica. En ese caso, se utilizó análisis espacial multicriterio en un Sistema de Información Geográfica.

## Área de estudio

La cuenca de La Cañada es un a En la MLC, las actividades agrícolas y pecuarias se acompañan de zonas forestales con una variedad de flora y fauna de gran valor cultural y ambiental que coexisten con una población culturalmente rica en historia y tradiciones, que forma parte del área de influencia estratégica de la Zona Metropolitana de la ciudad de Querétaro, como una zona logística de transporte y comunicación con el Aeropuerto Internacional de Querétaro, el libramiento Nororiente, la vía ferroviaria “El Ahorcado-Nuevo Laredo” y vialidades Primarias, Secundarias, Regionales y Estatales.

=

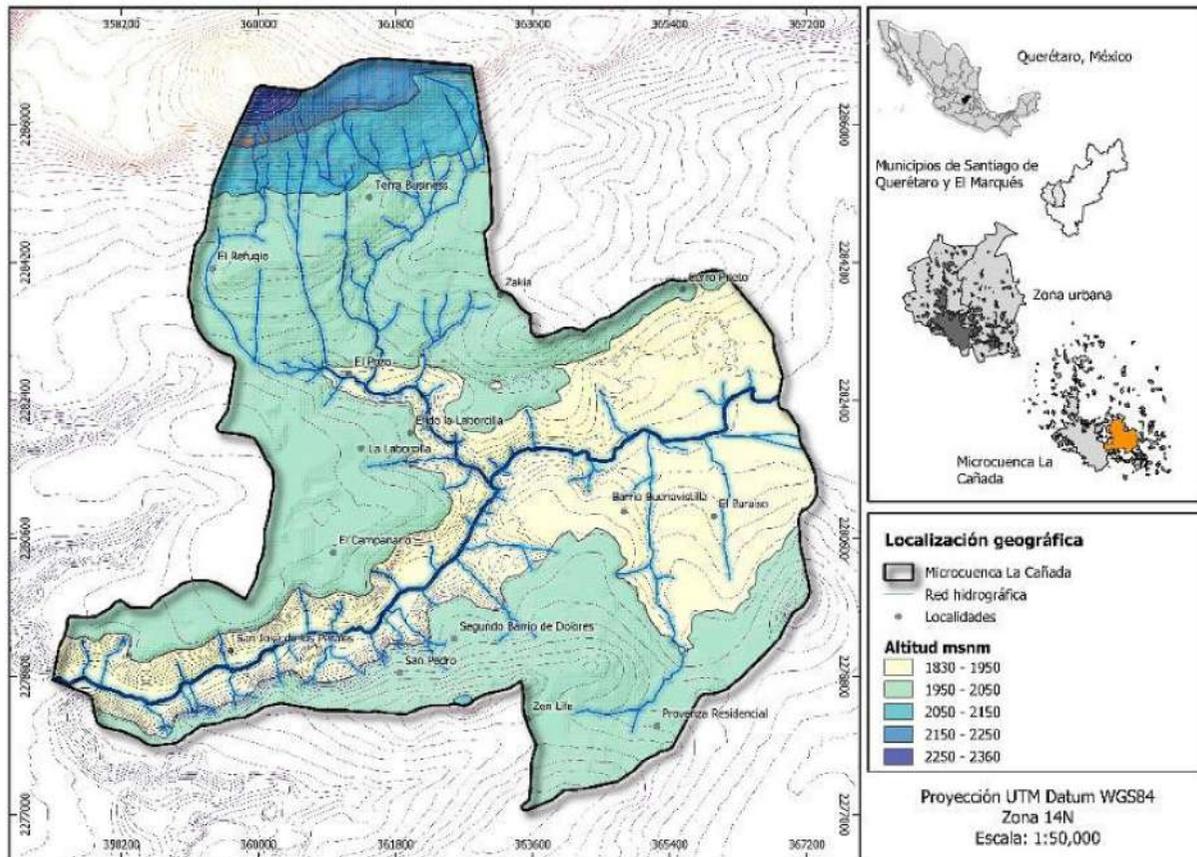


Figura 7. Localización geográfica de la MULC. Fuente: elaboración con información de INEGI (2015, 2017 y 2019) y Pedroza et al. (2020).

## Metodología

Se construyeron cuatro Unidades Ambientales Homogéneas (Camino, Gimeno y Ramón, 2014) a las cuales se aplicó el AEMC mediante el software ArcGis (v. 10.1) y el producto constituyó un mapa con la zonificación agroecológica de la cuenca.

**Unidades edafo-morfológicas (UEM).** Se trabajó con información del Conjunto de Datos Edafológico Vectoriales escala 1:250 000 (INEGI, 2007). Se obtuvo los tipos de suelos de lomerío, coluviales, alcalinos y aluviales. También se trabajó con los datos de orientación de

laderas, misma que se obtuvo con la herramienta *Hillshade* utilizando el análisis de relieve (Pedroza et al., 2020).

Los suelos asociados con los parámetros de relieve fueron los siguientes. Los suelos en los lomeríos se encuentran en asociación vertisol esquelético-léptico y phaeozem esquelético-léptico (clave VRsklep+PHsklep). Los suelos coluviales se encuentran en asociación vertisol pélico-endoléptico y phaeozem lúvico-endoléptico (clave VRpelen+PHlvlen), en la mayor parte de la cuenca media y baja. Los suelos alcalinos se encuentran en asociación vertisol macizo-pélico con vertisol pélico-sódico (clave VRmzpe+VRpesow) y se localizan en la parte

Este de la cuenca media. Los suelos aluviales son del tipo Vertisol macizo pélico de textura fina arcillosa (clave VRmzpe) se localizan en la parte baja de la microcuenca con depresiones intermedias, entre los 1850 y 1950 msnm.

El análisis de la orientación de laderas indica que la cuenca La Cañada tiene una orientación "Sur" del 37.4%. Por el contrario, el 36% de la superficie tiene una orientación "Norte". Asimismo, la superficie "plana" no tiene alguna orientación cardinal y abarca una superficie del 20.5%. Lo anterior indica que la cuenca recibe una insolación 54.5% de superficie, eso significa un importante aporte de radiación.

**Unidades bioproductivas (UB).** Se consultó el conjunto de datos vectoriales de uso del suelo y vegetación escala 1:250 000 serie VI (INEGI, 2017) y los datos topográficos escala 1:20 000 de INEGI (2016) que contiene información por tipos de uso de suelo, unidades bioproductivas y régimen hídrico.

En la cuenca La Cañada se encuentran 46 unidades bioproductivas, de las cuales 2,743 ha son de agricultura de temporal y comprenden el 47% de la cuenca, solo el 3% son parcelas de riego temporal y semipermanente con 680 ha. La cubierta de vegetación natural cubre 1,024 ha, de las cuales el 17% es vegetación crasicaule y el 5 % es vegetación secundaria arbustiva y arbórea de selva baja caducifolia. Por último, el 5% son bancos de materiales a cielo abierto.

**Unidades de riesgos ambientales (URA).** Se consultaron los riesgos geológicos, hidrometeorológicos, seguridad hídrica y erosión de suelos. Los datos de riesgos geológicos se ob-

tuvieron del Centro Nacional de Prevención de Desastres (2011) y el Atlas de Peligros Naturales y Riesgos del Municipio de El Marqués (2011). Se han presentado deslaves en pendientes entre 15° y 30° con actividad e intensidad alta y fallas geológicas que han ocasionado derrumbes de roca ígnea, afectando viviendas, infraestructura y vías de comunicación.

Los riesgos hidrometeorológicos se deben a inundaciones de entre 30 a 60 cm de crecida promedio en temporada de lluvias, que han causado afectaciones a infraestructura, viviendas y vías de comunicación y algunos decesos en las localidades de La Cañada, El Socavón, Saldarriaga y La Trinidad. Los riesgos de seguridad hídrica constan de contaminación de cuerpos de agua y escasez de servicio público de agua potable.

La erosión de la cuenca se tomó del Conjunto de Datos de Erosión del Suelo, escala 1:250 000 (INEGI, 2014). En la cuenca el 83.4% del suelo sin urbanizar tiene un tipo de erosión relacionada a la remoción de la vegetación para la agricultura y el aprovechamiento de minerales.

**Unidades locales de gestión (ULG).** Esta unidad se conforma por la tenencia de la tierra y las unidades locales de gestión ambiental. La tenencia de la tierra se consultó en los datos abiertos del Catastro Rural del Registro Agrario Nacional (2019), y las unidades locales de gestión ambiental se obtuvieron del Plan de Ordenamiento Ecológico Local del Municipio de El Marqués(2017). En la cuenca, los núcleos agrarios se encuentran distribuidos en: 11 ejidos,

27 parcelas y 11 tierras de uso común para actividades agropecuarias. Del ordenamiento ecológico se tomaron en cuenta las áreas de aprovechamiento sustentable, de conservación, protección y la proyección urbana. Se prevé que la zona urbana llegará a ocupar el 77% de la cuenca, mientras que el 12% está considerado área de aprovechamiento sustentable y solo el 8% para la conservación y protección.

**Análisis Espacial Multicriterio (AEMC).** El análisis espacial se basó en la suma lineal ponderada para clasificar los criterios y variables definidas en cada una de las UAH. La preparación de las variables se basó en los parámetros de análisis de unidades de agriculturización

(Vazquez, Sacido y Zulaica, 2013) y la zonificación socioambiental (Sánchez *et al.*, 2020). Se llevó a cabo una matriz de comparación pareada con el *software SuperDecisions* (v. 3.2) que integra la Ecuación 1 en la ejecución de la operación:

$$\text{Ecuación 1: } W_j = \frac{\frac{1}{r_j}}{\sum_i^n \frac{1}{r_i}}$$

En donde  $r_j$  es el lugar que ocupa el criterio en relación a las demás. El resultado  $W_j$  indica el grado de contribución de cada criterio (Cuadro 1), obteniendo así los valores de importancia en la delimitación de las Unidades Agroecológicas (UAE).

**Cuadro 1. Matriz de variables de acuerdo a su peso ( $W_j$ )**

Variable	Indicadores	Orden de importancia	Peso ( $W_j$ )
<b>ULG</b>	Aprovechamiento sustentable, desarrollo urbano, áreas de conservación y protección, propiedad social	1	0.34
<b>UEM</b>	Orientación de laderas y tipos de suelo	4	0.17
<b>UB</b>	Agrícola-pecuario y vegetación natural	3	0.20
<b>URA</b>	Geológica, hídrica y erosión de suelo	2	0.27

*Fuente: elaboración propia a partir de la suma lineal ponderada.*

Se ponderaron los indicadores del 1 al 5, siendo 1 el de mayor relevancia y 5 el de menor. En las Cuadros de atributos de cada capa temática tipo *Shp* se integraron los valores dados en la Cuadro 2, posteriormente se convir-

tieron en capas *raster* con un teselado de 10 *pixeles*, por último, se ejecutó la herramienta de análisis jerárquico utilizando el Algebra de Mapas del *ArcGis* (v.10.3) dando como resultado el raster final.

**Cuadro 2. Cuadro de ponderación de indicadores**

Variable	Indicadores	Valores
<b>Unidades locales de gestión(ULG)</b>	Propiedad social	4
	Aprovechamiento sustentable	1
	Áreas de conservación	2
	Áreas de protección	3
	Zona urbana	5
<b>Unidades edafomorfológicas(UEM)</b>	Suelos aluviales-coluviales	1
	Suelos aluviales-coluviales	2
	Suelos alcalinos	3
	Suelos de lomerío	4
<b>Unidades bioproductivas (UB)</b>	Agricultura permanente	1
	Agricultura semipermanente	2
	Agricultura de temporal	3
	Pecuario	4
	Vegetación natural	5
	Zona urbana	6
	Área desprovista de	7
<b>Unidades de riesgo ambiental(URA)</b>	Erosión Antrópica-hídrica	1
	Puntos de deslaves	2
	Zonas de inundacion	3
	Fallas geológicas	4

*Fuente: Elaboración propia a partir de los resultados de la suma lineal ponderada.*

## Resultados y Discusión

Con la información espacial generada a partir del raster final se caracterizó el mapa criterio de zonificación agroecológica de la cuenca (Figura 1). Se diferenciaron cinco Unidades Agroecológicas (UAE) que incluyen zonas de conservación, recuperación y producción de vegetación en relación a la disposición socioeconómica, la proyección del desarrollo urbano, los riesgos ambientales y las condiciones biofísicas de la cuenca.

El cruce de información de las unidades ambientales y agroecológicas permitió caracterizar las condiciones biofísicas y socioeconómicas correspondientes a cada UAE (Cuadro 3). Estos resultados se podrán complementar con valores temporales como en trabajos antecedentes como en Vazquez *et al.* (2013) para realizar una comparación espacio temporal con el fin de analizar los procesos de des-agriculturización que han influido en la cuenca.

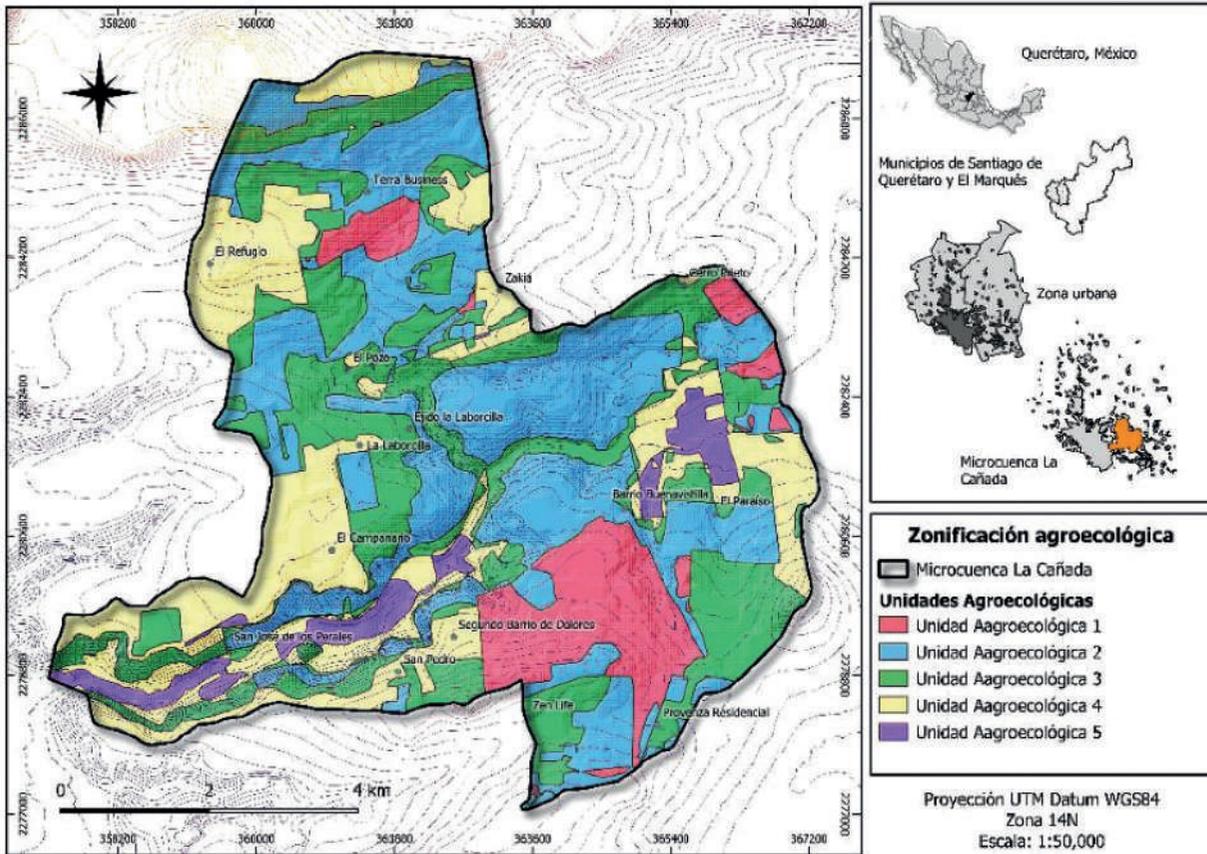


Figura 8. Mapa de la Zonificación Agroecológica (ZAE) como resultado del Análisis Espacial Multicriterio. Elaboración propia con uso del software ArcGis (v. 10.1) y Qgis (v. 3.10.6).

**Cuadro 3. Unidades Agroecológicas de la microcuenca La Cañada.**

Atributos		UAE1	UAE2	UAE3
<b>Paisaje</b>		Lomas planas	Lomas amplias y	Planicies aluviales
<b>Vegetación</b>		Vegetación secundaria arbustiva	Agricultura de temporal	Agricultura de temporal
<b>Altura</b>		1940 a 2220 msnm	1880 a 2300	1880-2120 msnm
<b>Pendientes</b>		Menor a 15%	Menor a 30%	Menor a 45
<b>Aspectos hidrográficos</b>		Nacientes efímeras intermitentes	Curso intermitente y	Curso permanente e
<b>Drenaje superficial</b>		Excesivamente	Bien drenado	Pobrementemente
<b>Suelos</b>	Subgrupos	Vertisol-Phaeozem	Vertisol-	Vertisol-
	Textura	Arcilla arenosa	Arcilla arenosa	Arcilla arenosa
	Limitantes	Profundidad de 50	Profundidad de	Profundidad de
<b>Régimen hídrico</b>		De temporal	De temporal	De temporal
<b>Gestión ambiental</b>		Protección/	Aprovechamiento	Urbano
<b>Riesgos ambientales</b>		Erosión moderada	Erosión media	Erosión
<b>Unidades</b>		Agrícola/pecuario	Agrícola	Solares
<b>Tenencia de la tierra</b>		Uso común	Uso común	Privado

*Fuente: Sistema de evaluación utilizado por el Servicio de Conservación de Suelos de los Estado Unidos (Klingebiel & Montgomery, 1961). Cuadro elaborado con base en Vazquez et al. (2013, p.35).*

En la ZAE se aprecia que el 35% (UAE 1, 2 y 3) de la microcuenca tiene un importante potencial agroecológico, mientras que las UAE 4 y 5 presentaron una mayor tendencia hacia procesos de desarrollo urbano. En la cuenca se han detectado descargas domésticas, agrícolas/pecuarias que aportan detergentes, nutrientes, materia orgánica, grasas, aceites y sólidos, fertilizantes, plaguicidas, sólidos disueltos y suspendidos. Aunado a esto, se ha detectado el uso de aguas residuales para las actividades agrícolas (GMEM, 2011, 2017).

## Conclusiones

La metodología utilizada demostró ser una herramienta de análisis remoto que facilita el ordenamiento del territorio, permitiendo analizar información cuantitativa en una matriz de representación que puede integrar los atributos necesarios para un análisis más amplio.

En este sentido, la ZAE cumple la función de proveer las bases para mitigar problemas ambientales al generar el mapeo de las Unidades Agroecológicas (UAE), tal como en Vaz-

quez *et al.* (2013), la identificación de las UAE constituye el espacio en dónde se pueden formular planes de aprovechamiento sustentable, conservación y recuperación ambiental. En conclusión, el estudio integrado de la cuenca es de gran utilidad en el ordenamiento territorial para la designación de sitios en donde es importante considerar un modelo de gestión sostenible.

## Literatura citada

- Camino-Dorta, J., Gimeno-Ortiz, M., & Ramón-Ojeda, A. (2014). Las unidades ambientales homogéneas como herramienta para la ordenación territorial y la caracterización de litorales áridos. *Vegueta. Anuario de la Facultad de Geografía e Historia*, 14, 199-228.
- Centro Nacional de Prevención de Desastres. (2016). *Guía de contenido mínimo para la elaboración del Atlas Nacional de Riesgos*. Diario Oficial de la Federación.
- Gobierno Municipal de El Marqués & SEDESOL. (2011). *Atlas de peligros naturales y riesgos del municipio de El Marqués, Querétaro*. Querétaro, México: Gobierno Municipal de El Marqués.
- Gobierno Municipal de El Marqués. (2017). *Programa de Ordenamiento Ecológico Local de el Municipio del Marqués, Qro.* El Marqués: Municipio de El Marqués.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. (2007). *Conjunto de Datos Vectorial Edafológico Carta F14-10*. Escala 1:250 000 Serie II.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. (2016). *Carta Topográfica Digital F14C66a*. Escala 1:20 000.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. (2017). *Conjunto de datos vectoriales de la carta de Uso del suelo y vegetación*. Escala 1:250 000. Serie VI. Conjunto Nacional.
- Pedroza-Meneses, H. I., Hernández-Guerrero, J. A., & Luna, M. (Noviembre de 2020). Zonificación para la conservación de suelo y agua, caso de estudio: Micrucuenca La Cañada, Querétaro. (M. Antonio-Cruz, A. Merlo-Zapata, & C. Márquez-Sánchez, Edits.) *4to Congreso Nacional de Investigación Interdisciplinaria: Enfrentado retos emergentes de ciencia y tecnología / Instituto Politécnico Nacional*, 532-539.
- Sánchez, J., Mendoza, Y., & García, P. (2020). Zonificación Ecológica y Socioeconómica como aporte al proceso de planificación y gestión, en el marco del proceso de Ordenamiento de la Cuenca Grande del Municipio de San Antonio del Tequendama, Departamento de Cundinamarca. Colombia: Universidad Santo Tomás. doi:<https://doi.org/10.15332/dt.inv.2021.01877>
- Vazquez, P., Sacido, M., & Zulaica, L. (2013). Zonificación agroecológica de la cuenca del río Quequén grande, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rvista Georaguaia*, 3(2), 26-45.

# Diseño de una Aplicación Móvil encaminada a la Promoción y Establecimiento de la Lactancia Materna

*Pérez Caamaño, M. C.*

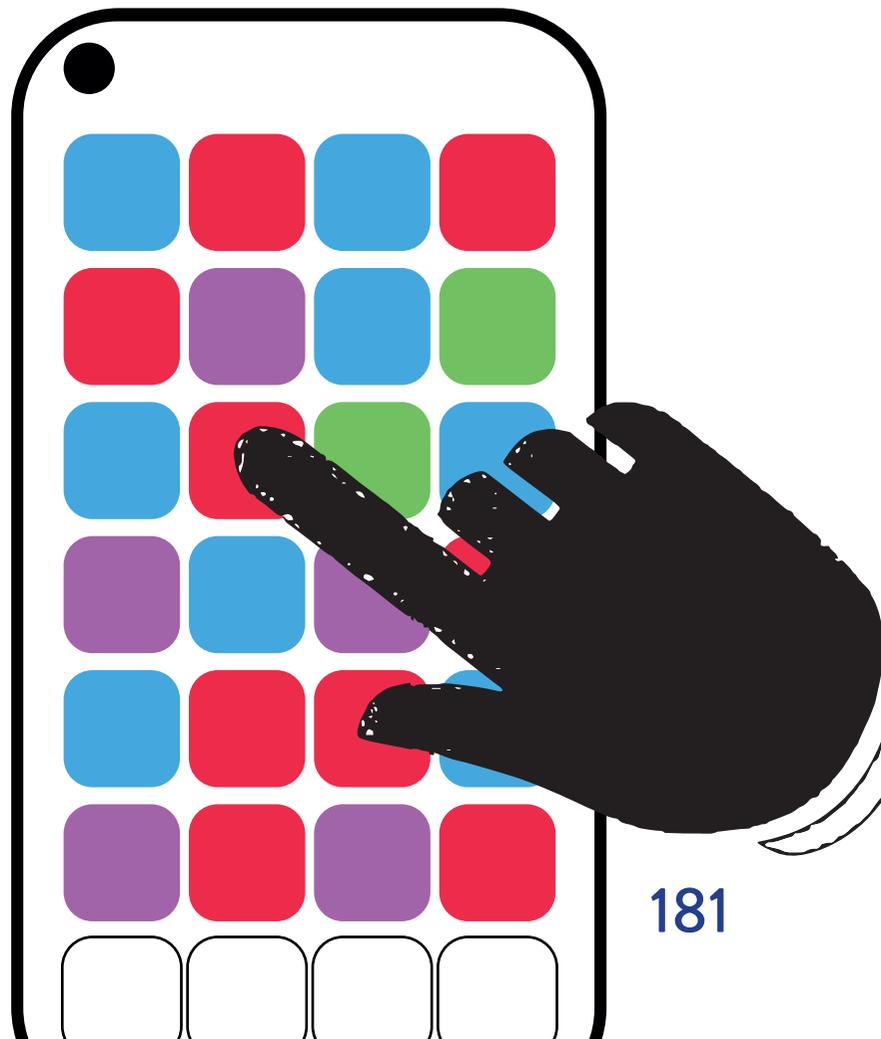
*Chávez Alabat, E. F.*

*Chávez Servín, J. L. Rosado Loria, J. L.*

*de la Torre Carbot, K.*

*Hernández Olvera, H. A.*

Maestría en Nutrición Clínica Integral,  
Facultad de Ciencias Naturales



# Introducción

La lactancia materna es un proceso natural en el que la madre proporciona al niño los nutrientes necesarios para su correcto crecimiento y desarrollo, a través de la cual se pueden obtener ventajas inmunológicas, cognitivas, emocionales, económicas y ambientales (OMS, 2019). La Organización Mundial de la Salud señala que los bebés debenser amamantados exclusivamente durante los primeros seis meses y acompañar la alimentación complementaria con lactancia materna hasta al menos el segundo año de vida. Sin embargo, el porcentaje de madres en México que ofrecen lactancia materna exclusiva durante los seis primeros meses es de 30.8%, es decir, solo tres de cada diez neonatos disfrutan los beneficios de una alimentación óptima en esta etapa. Esto sucede en razón de que existen múltiples barreras que interfieren durante la lactancia y de las cuales destacan la desinformación, el tener una percepción equivocada de la lactancia, y el poco apoyo recibido (Samano et al., 2018).

En la actualidad han surgido diferentes alternativas para atender necesidades de salud y una de ellas se expresa a través del uso de la tecnología, por ejemplo, a través de aplicaciones móviles las cuales se describen como softwares que pueden instalarse en teléfonos inteligentes, con costo o gratuitas, de acuerdo a diferentes objetivos (Wheaton, Lenehan, & Amir, 2018).

Esta visión prometedora para las “APPS” y los dispositivos en los que se utilizan, ha influido para que instituciones y organizaciones

lleven a cabo acciones específicas en salud en torno a esto. Muestra de ello, es que en el año 2012 la OMS lanzó la iniciativa mHealth refiriéndose al aprovechamiento de aplicaciones para ayudar a combatir enfermedades como diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades respiratorias, siendo otra forma de acción para salvar vidas, reducir enfermedades y disminuir los costos que generan. En general, las aplicaciones se convierten en una manera práctica de difundir información, observándose una realidad prometedora en cuanto al uso de estas en el sistema de salud y representando una estrategia potencial para las condiciones actuales y del futuro.

## Metodología

### *Tipo de investigación*

El presente trabajo está compuesto por dos fases, una de diseño y un estudio longitudinal prospectivo en el que se evalúa la aplicabilidad y el aprendizaje que se genera durante un tiempo determinado tras el uso de una aplicación móvil sobre lactancia materna.

### *Ubicación temporal*

El diseño del contenido y material correspondiente a la primera fase se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, mientras que la evaluación de los conocimientos se realizó con población del municipio de Santiago de Querétaro, Querétaro y Ciudad Victoria, Tamaulipas.

## Muestra

La evaluación de conocimientos se realizó principalmente en mujeres, en edad fértil, aunque en general se invitó a participar a hombres y mujeres interesados en el tema expuesto dentro de la aplicación móvil. El muestreo se realizó por conveniencia en donde los individuos fueron elegidos dada la disponibilidad de estos así como su accesibilidad y por bola de nieve, preguntando a los mismos participantes si conocían personas con las características necesarias para la realización del estudio.

### Criterios de inclusión

- Mujeres interesadas en el tema de lactancia materna.
  - Varones interesados en el tema de lactancia materna.
  - Que cuenten con teléfono propio o Tablet y sistema operativo Android.
  - Que desee participar en el estudio.
  - Contar con acceso a internet.
- ### Criterios de exclusión
- Falta de disponibilidad para participar en el estudio.
  - Enfermedades o discapacidad mental que impidan el manejo eficiente de un dispositivo móvil.

### Criterios de eliminación

- Participantes que no completen el estudio
- Participantes que deseen abandonar o finalizar su participación en el transcurso que se esté llevando a cabo el estudio.

Primera Fase (Desarrollo de la Aplicación). El desarrollo de la aplicación móvil “Yo amo con lactancia” se llevó a cabo a través de una serie de acciones encaminadas a identificar la información necesaria a transmitir, así como el diseño y revisión del contenido de esta herramienta. Se realizó una búsqueda bibliográfica inicial sobre la situación actual de la lactancia materna y las razones principales por las cuales ocurre su abandono en México. Para la búsqueda bibliográfica se utilizaron las bases de datos electrónicas: Google Académico y PUD-MED, utilizando las palabras clave Breastfeeding, lactancia materna y México. A partir de las razones identificadas se estableció una lista de temas a tratar y de conocer por las madres y público en general antes y durante la alimentación a base de leche materna. También se elaboró el contenido y la estructura a seguir de los temas dentro de la aplicación móvil. Durante este periodo se revisó algunas aplicaciones móviles sobre lactancia materna, con la finalidad de conocer el campo y la presencia que tiene actualmente en play store.

Tras observar las diferentes áreas de oportunidad se estableció la lista de temas finales y por ende el contenido de cada uno de ellos. Posteriormente a través de un archivo Word se creó un instructivo que se encargó de explicar los detalles del texto, imágenes, niveles, colores y todo lo necesario para obtener la expresión visual del producto. Este documento se le entregó al diseñador gráfico e ingeniero en informática los cuales se encargaron de la programación.

El contenido y la información, una vez desarrollada y expresada en un teléfono móvil, se sometieron a revisión por parte de sus creadores y personal capacitado en lactancia materna, con la finalidad de identificar errores ortográficos, de redacción, de programación, jerarquización, pertinencia y calidad de la información. Se llevó a cabo un reconocimiento de oportunidades de mejora y de ser necesario posible reestructuración de la información. Al finalizar este análisis se realizó un documento en el que se explicó las nuevas correcciones solicitadas a los programadores. Hechas las modificaciones correspondientes se obtuvo la versión final de la aplicación móvil “Yo amo con lactancia”.

Segunda Fase. Evaluación de la Aplicación. Posteriormente y como parte ya de la segunda fase del proyecto se evaluó el diseño de la aplicación móvil a través del cuestionario uMARS. Esta evaluación se aplicó a ocho mujeres, siete de ellas profesionales del área de la salud y una madre de familia, las cuales fueron invitadas a utilizar la aplicación móvil. El tiempo de uso de esta herramienta fue de un mes. Durante este periodo se les recomendó a las participantes que leyeran y utilizaran libremente la aplicación móvil.

De la misma forma pero con un grupo de participantes diferentes se llevó a cabo, a manera de estudio Piloto, la evaluación del aprendizaje en los usuarios de la aplicación. Para evaluar la adquisición de conocimientos, la versión final de “Yo amo con lactancia” se aplicó a un grupo de personas interesadas en participar en el estudio N=28. Al iniciar, cada uno de los usuarios recibió una hoja informativa que describe

los pasos a seguir durante toda su participación en el proyecto. Posteriormente, se le pidió a los sujetos que contestaran los cuestionarios de datos generales y conocimientos, además, durante esta etapa se solicitó no consultar ningún tipo de fuente informativa referente a lactancia materna.

Una vez que el usuario confirmó haber respondido las primeras evaluaciones, se le otorgó a cada uno el link que permite la descarga de la aplicación móvil. El periodo de prueba para que las personas revisaran y leyeran la aplicación fue de un mes. Trascurrido este lapso se otorgó el acceso a los cuestionarios restantes. El medio de comunicación utilizado para compartir los formularios, el link de descarga y la hoja informativa fue a través de WhatsApp.

A raíz de la Contingencia por la pandemia Covid-19, se decidió transcribir el cuestionario uMARS que permite evaluar el diseño, así como los cuestionarios aplicados a Google forms, con la finalidad de que los participantes del proyecto logran responder estos formularios en línea a través de sus dispositivos móviles o computadoras.

## Resultados

Evaluación del diseño. Se llevó a cabo la evaluación del diseño de la aplicación con ocho mujeres interesadas en participar en el proyecto para evaluar el diseño de “Yo amo con lactancia” a través del uMARS, herramienta que evalúa el diseño de forma objetiva y subjetiva

de aplicaciones móviles en salud. Los ítems con orientación objetiva se dividen en cuatro áreas (compromiso, funcionalidad, estética y calidad de la información). Cada área está conformada por entre tres a cinco preguntas las cuales se califican dentro de una escala del 1 al 5. El área de compromiso resulto dar la puntuación más baja al obtener 4.03 puntos de 5 disponibles, seguido por la estética quien obtuvo una puntuación general de 4.54, mientras que el criterio de funcionalidad y calidad de la información promediaron la mejor calificación recibida por parte de las mujeres participantes presentando cada uno un puntaje de 4.66 y 4.69 respectivamente. En total, la aplicación móvil obtuvo un promedio general de 4.48 lo cual resulta favorecedor, ya que de acuerdo a la literatura se considera como aceptable una calificación entre los rangos de 3 a 5.

En relación a la evaluación subjetiva todas las participantes refirieron que sí recomendaría la aplicación con otras personas. Por otra parte, al preguntar sobre “¿Cuántas veces usarían la aplicación?” las mujeres señalaron un amplio rango que abarco desde las 5 veces como mínimo y hasta un máximo de 100. Por otro lado, el 75% de las usuarias mencionó que sí desembolsaría una cantidad de dinero para obtener la aplicación mientras que el 25% restante no lo haría. Finalmente, 4 personas otorgaron como calificación a la aplicación móvil “Yo amo con lactancia” 5 estrellas de 5 posibles, 3 participantes concedieron cuatro y solo un sujeto tres estrellas.

Evaluación de conocimientos (estudio piloto). Un total de 89 personas fueron invitadas

a participar en el estudio piloto de la evaluación de la aplicación móvil “Yo amo con lactancia” en los municipios de Ciudad Victoria y Santiago de Querétaro de los estados de Tamaulipas y Querétaro respectivamente. De estos, 51 aceptaron participar de las cuales 48 eran mujeres y 3 hombres, sin embargo, durante el proceso abandonaron el proyecto 23 personas, como resultado realizaron el proceso completo una n=28, conformada por 26 mujeres y 2 hombres. La principal razón de exclusión fue el abandono del proyecto por los usuarios. En cuanto a las características grupales de los participantes, la edad media de estos es de 32.8 años, los cuales manifiestan utilizar en promedio alrededor de 6.07 horas por día su dispositivo móvil. Aunado a lo anterior entre otras particularidades se encuentra que el nivel licenciatura es el grado de escolaridad preeminente entre la población participante. A su vez, el 78.6% de los usuarios acepto que suele utilizar medios de comunicación para acceder a información relacionada al tema de lactancia materna. Particularmente, se identificó que las formas más utilizadas para buscar información sobre lactancia materna por las personas participantes son a través de la consulta con profesionales de la salud seguido muy de cerca por el internet, ya que el 53 y 50 % de la población de estudio acepto utilizar estos medios informativos.

De los 28 sujetos que participaron en el estudio, 15 de ellos (53.5%) mostraron un incremento de entre 1 y 11 respuestas correctas respecto a la primera evaluación que realizaron, mientras que 6 (21.5%) mantuvieron la misma calificación y los 7 (25%) restantes empeoraron

su puntuación al responder equívocamente de 1 a 5 interrogantes en relación a su evaluación previa. La media de aciertos por participante para el primer cuestionario fue de 24.86 mientras que para el segundo este incremento a 26.25. El promedio general del cuestionario de conocimientos fue de 75.27 sobre 100 para la primera aplicación. El promedio general de la segunda evaluación fue de 79.47 sobre 100.

Finalmente, para comparar el promedio del cuestionario de conocimientos inicial y final se utilizó la prueba *t* de Student para muestras relacionadas, este análisis arrojó un *P* valor de .042, lo cual establece que existe una diferencia significativa en las medias de calificación antes y después de la intervención con la aplicación móvil “Yo amo con lactancia” por lo que se define que si existe efectos significativos sobre el conocimiento que adquieren los pacientes tras el uso de esta herramienta de lectura. De hecho, los pacientes en general aumentaron su promedio de 75.27 a 79.47 sobre 100, es decir, se presentó un incremento de 4.2 puntos porcentuales respecto a la primera evaluación.

## Discusión

Diseño. Los resultados obtenidos en el uMARS brindan una visión prometedora que permite conocer las áreas de oportunidad necesarias de trabajar para mejorar la aplicación móvil “Yo amo con lactancia”. Si bien la mayoría de las subáreas de este cuestionario obtuvieron calificaciones por encima de 4.5 puntos es importante establecer que la aplicación diseñada también

posee algunas deficiencias que se reflejaron en los rubros peor calificados como son personalización (puntaje 2.13) e interactividad (puntaje 3.63), representando uno de los retos prioritarios a considerar si se quiere desarrollar una mejor versión de la aplicación. De esta forma enfocar los trabajos de mejora hacia una aplicación móvil más dinámica que permita realizar diferentes acciones tales como enviar mensajes, recibir notificaciones e incluso permitir que el usuario individualice a su gusto los detalles de la misma podría representar una solución ante estas áreas de oportunidad identificadas por las usuarias.

Conocimientos. Para evaluar la adquisición de conocimientos participaron 28 personas. A fin de esto se utilizó un cuestionario de 33 preguntas sobre lactancia materna, dicha evaluación se llevó a cabo antes del uso de “Yo amo con lactancia” y trascurrido un mes se repitió la misma prueba. De estos, la mayoría de los usuarios logro mejorar su calificación respecto a la primera evaluación. Para los evaluadores resulta importante mencionar que las preguntas en su mayoría mostraron un incremento general en relación a las respuestas correctas al aplicar la evaluación posterior, además, el análisis estadístico mostro que el uso de la aplicación móvil genera un pequeño pero significativo incremento del promedio al usarla por lo menos durante un mes. En general, los resultados mencionados otorgan la certeza necesaria para confirmar que se puede proponer a esta herramienta como una forma más de abordar a la lactancia materna y representar un flanco adaptado a la actualidad, mediante un dispositivo

que se ha vuelto indispensable en la sociedad y que se acopla perfectamente a las condiciones actuales vividas alrededor del mundo. No obstante, la aplicación móvil para nada sustituye por completo las funciones y el apoyo que pueda recibir la mamá o el público en general por parte de profesionales de la salud y personal capacitado en el área.

## Conclusiones

Se desarrolló una aplicación móvil funcional que brinda información sobre lactancia para dispositivos Android. Se evaluó el diseño, adquisición de conocimientos y aplicabilidad. “Yo amo con lactancia” fue en general muy bien calificada en cada una de las evaluaciones realizadas, lo cual define que el material desarrollado posee una visión prometedora, por lo que vale la pena presentar esta herramienta móvil a la población. Además, resulta ser una aplicación móvil que puede representar una forma potencial que influya en el refuerzo de actividades relacionadas a la promoción de la lactancia materna, a través de la información que brinda adecuándose a las necesidades del estilo de vida de hoy en día.

Aunque esta herramienta no sustituye la información y el apoyo que pueda recibir la madre proveniente de diferentes personas, como familiares, promotores de lactancia materna o personal de salud correctamente capacitado, esta aplicación móvil representa una forma complementaria para que la madre pueda contar con un apoyo para poder informarse ade-

cuadamente, de una manera sencilla y práctica, al contar con una fuente rápida, respaldada, confiable y de fácil acceso, por medio de la cual pueda resolver las dudas más importantes y conocer los aspectos y estrategias básicas para establecer y mantener la lactancia materna, así como los problemas más comunes a los cuales la madre generalmente se enfrenta y las ideas erróneas que ponen en riesgo e influyen en el abandono de la lactancia.

Además, el presente trabajo puede brindar las bases e instrucciones para elaborar adecuadamente una aplicación móvil informativa sobre temas relacionados al campo de la salud trayendo consigo resultados positivos.

## Literatura citada

- OMS. (2019). Lactancia materna exclusiva. *WHO*. Retrieved from [http://www.who.int/elena/titles/exclusive\\_breastfeeding/es/](http://www.who.int/elena/titles/exclusive_breastfeeding/es/)
- Samano, R., Barba, G. C., Martínez, T. A., Fonseca, N. E., Álvarez, C. P., Álvarez, J. A., & Celayo, S. M. (2018). Barreras y facilitadores para la práctica de lactancia materna exclusiva en un grupo de madres de la Ciudad de México. Retrieved January 8, 2021, from <https://www.alanrevista.org/ediciones/2018/1/art-4/>
- Wheaton, N., Lenehan, J., & Amir, L. H. (2018). Evaluation of a Breastfeeding App in Rural Australia: Prospective Cohort Study. *Journal of Human Lactation*, 34(4), 711–720. <https://doi.org/10.1177/0890334418794181>

# Estudio de los sitios blanco de la toxina Killer (K1) de *Saccharomyces cerevisiae* en el canal de potasio Tok1

## **Ramírez Villarreal J.**

Universidad Autónoma de Querétaro, Maestría en Ciencias Biológicas, FCN.

Laboratorio de biofísica de membranas. Facultad de Ciencias Naturales.

Universidad Autónoma de Querétaro.

## **Morales-Tlalpan V.**

<sup>2</sup>Laboratorio de biofísica de membranas. Facultad de Ciencias Naturales.

Universidad Autónoma de Querétaro.

## **González-Gallardo A.**

Unidad de Proteogenómica. Instituto de Neurobiología. UNAM, Campus Juriquilla.

## **Molina Vera C.**

Universidad Autónoma de Querétaro, Maestría en Ciencias Biológicas, FCN.

Laboratorio de biofísica de membranas. Facultad de Ciencias Naturales.

Universidad Autónoma de Querétaro.

## **Saldaña C.**

Laboratorio de biofísica de membranas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.

# Introducción

Desde 1963 Bevan y Makower comenzaron con el estudio de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, las cuáles ahora se sabe que adquieren una coinfección de virus de RNA de cadena doble. Por lo general, estos virus pertenecen a la familia *Totiviridae*. La infección tiene como resultado la síntesis de una preprotoxina (Peña, 1981; Bussey, 1991). El péptido inmaduro (preprotoxina), está compuesto por 4 subunidades de proteína: alfa, gama, delta y beta, gama y delta se encargan del transporte de la preprotoxina a través del retículo endoplásmico y el aparato de Golgi en dónde se llevan a cabo diversas modificaciones postraduccionales, que generan diversos cortes y pliegues, para tener como resultado una toxina madura, que ha sido denominada como *Killer (K1)* (Bussey 1990; Breinig 2002). Esta toxina está conformada por dos subunidades alfa y beta, que se encuentran estabilizadas hasta tres puentes disulfuro. Finalmente, la toxina *K1*, es secretada al medio extracelular en dónde aún no se ha definido de manera clara el mecanismo de acción (Sesti, 2001; Breinig 2002). Hasta el momento, en el laboratorio se ha logrado describir algunas partes del proceso. Cuando la toxina se localiza en el medio extracelular, el pH cercano a 4.6 – 4.7 induce cambios en el péptido, lo que lleva a desestabilizar los puentes disulfuro entre las subunidades alfa y beta. Es de gran importancia el pH, debido a que, se ha observado en experimentos del laboratorio, que a pH 4.6, 4.7 el efecto de la toxina es irreversible, caso contrario en pH fisiológico 7 o 6, la toxina pierde efectividad con el paso del tiempo,

teniendo un máximo de actividad a las 8 horas. En el momento en el que la toxina interacciona con una célula de levadura sensible, parte de la toxina (posiblemente beta) se une a la fracción de 1-6 beta glicano. Posteriormente, (posiblemente alfa) será translocada a la membrana celular, en dónde la toxina va a unirse con una proteína anclada a GPI, Kre1p quién se encarga de la síntesis y mantenimiento estructural de la pared celular en la levadura (Breinig, Tipper, y Schmitt 2002; Ahmed et al. 1999).

A partir de ese punto, existen al menos dos teorías del camino que seguirá la toxina: 1) puede incrustarse directamente en la membrana generando poros *de novo*. Lo que posteriormente se verá reflejado en la salida desmesurada de potasio y otros iones de la célula hasta matarla (de la Peña 1981, Bussey 1991). 2) Esa porción de la toxina, sea capaz de unirse y activar canales iónicos, como el canal de potasio TOK1. Por medio de la delección del gen TOK1, dichas levaduras presentaron resistencia a la toxina *K1*. Concluyeron que el efecto de la toxina requiere la presencia del producto de ese gen. Además de esto, pudieron demostrar que *K1* altera la función de los canales aumentando su actividad y probabilidad de apertura. Por lo tanto, incrementando el flujo externo de potasio, en ensayos con ovocitos (Ahmed 1999).

Induciendo consecuencias semejantes a la primera teoría, como la salida desmesurada de potasio, el cual es importante para mantener la turgencia y sobrevivencia de la célula, llevándolas finalmente a la muerte (Ahmed et al. 1999; Sesti 2001). Estudios al respecto, han demostrado que, en esferoplastos de levadura

(que carecen de pared celular) la toxina sigue teniendo efecto letal, por lo que la única participación de Kre1p en el mecanismo de acción de la toxina, ha sido descartada. La inducción de poros *de novo* no ha podido ser demostrada. Mientras que otros estudios han mostrado que la sobreexpresión de TOK1 tanto en levaduras como en ovocitos de *Xenopus laevis* expuestos a la toxina, ha llevado a un incremento en la letalidad de K1 (Ahmed 1999; Sesti 2001).

Los estudios realizados en el laboratorio están encaminados a demostrar la teoría de TOK1 como blanco molecular de la toxina y a estudiar el mecanismo de acción de ésta. Las pruebas que apoyan esta teoría son registros electrofisiológicos con ovocitos, los cuales consisten en microinyectar ARNm para expresar a TOK1 funcional. Los resultados de estos registros apuntan a que hay un cambio en la probabilidad de apertura de TOK1 al exponer el experimento a la toxina y que éste deja salir potasio de manera descontrolada de la célula hasta matarla (Ahmed, 1999).

Se propone también que hay una separación de la subunidad alfa y beta de la toxina al interactuar con el pH extracelular, por lo que la toxina buscará estabilizarse, formando nuevos puentes disulfuro en regiones con residuos de cisteínas (Schmitt, 2006; Gier 2019). Aspecto del cual ya se tienen algunos antecedentes, experimentos en los que se ha logrado extraer y recuperar a alfa y beta a diferentes niveles: una presente en la pared celular y la otra presente en la membrana plasmática. En el laboratorio de biofísica de la facultad se hizo el análisis de la secuencia del canal, en donde se ha logra-

do ubicar en un mapa topográfico del canal a 13 cisteínas presentes en la estructura. La presencia de este tipo de aminoácido en estructuras como canales iónicos no es tan común. Las cisteínas ayudan a mantener la estructura cuaternaria de algunas proteínas. Sin embargo, en el caso de TOK1, podemos observar una cantidad excesiva. Es por ello, que se está estudiando en el laboratorio el posible papel que éstas pueden tener en el mecanismo de acción de la toxina a través de la formación de puentes disulfuro. Nuestro grupo de trabajo propone que, en algunas de estas cisteínas, la parte alfa o beta de la toxina podría estar formando nuevos puentes disulfuro, generando los cambios necesarios en TOK1 como para inducir la muerte de células sensibles. Esto se ha podido constatar en estudios realizados en el grupo de trabajo en los cuales se ha visto que la toxina K1, puede matar a procarionotas con mayor eficiencia que la misma *S. cerevisiae* (Ramírez V J 2018).

Se realizó una mutagénesis dirigida *in silico* para observar cual o cuales de todas esas cisteínas pudieran estar involucradas en la acción de la toxina, con ello y mediante otros criterios de selección se identificaron y seleccionaron cuatro de ellas (De Blas C 2016; Ramírez V J 2018). Por lo tanto, en este proyecto se busca investigar el papel de las cisteínas en la acción de la toxina como parte de su mecanismo de acción y además estudiar la relación que podría tener la estructura del canal TOK1.

Por ello, con base en esta información, están siendo estudiadas las cuatro cisteínas identificadas como CYS 381, CYS 418, CYS 411, CYS 415, que están presentes en las regiones

de poro 1 y 2 del canal de potasio TOK1, para determinar su interacción directa con la toxina permitiendo que el fenómeno *Killer* ocurra.

Resultados preliminares; antes de realizar la mutagénesis dirigida, constarán de la expresión de TOK1 el cual se ha separado en dos dominios funcionales (Saldaña C 2002). En este trabajo previo, se determinó el papel de cada uno de los dominios formadores de poro y su contribución a la selectividad iónica. Saldaña y colaboradores realizaron mutagénesis dirigida para separar los dos dominios de poro generando dos proteínas. La primera genera un canal de 6 cruces transmembranales y un dominio formador de poro, al cual se le denominó TOK1A, y la segunda de dos cruces transmembranales y un dominio formador de poro, denominado TOK1B. Estas construcciones moleculares, permiten separar los dos dominios formadores de poro y al mismo tiempo separar las cisteínas que se localizan en la vecindad de estos. Estos dos canales generados de manera artificial nos brindan la oportunidad de estudiar el papel de cada una de esas cisteínas y su potencial interacción con la toxina K1. La K1, así mismo está siendo utilizada en la industria vitivinícola, evitando la contaminación del mosto durante el proceso de fermentación de una gran variedad de bebidas fermentadas. También podría ser utilizada como un péptido antimicrobiano (Liu et al. 2015; Mannazzu et al. 2019).

## Metodología

El primer bloque de experimentos consiste principalmente en realizar transformantes de levadura  $\Delta tok1$  con los insertos de TOK1, TOK1A y TOK1B. Una vez obtenidas estas transformantes y después de analizarlas, se realizarán pruebas de inhibición en placa con la toxina K1. El segundo bloque, consiste en realizar las mutantes puntuales de las cisteínas en los sitios 7, 9, 10 y 11 del mapa topográfico o de los sitios en la secuencia identificados como 381, 414, 415 y 418 por metioninas. Una vez obtenidas las mutantes y su verificación, se procederá a realizar la ligación y transformación de levaduras para posteriormente, realizar experimentos de inhibición en placa utilizando la toxina.

Adicional a la parte experimental, se realizaron varios análisis computacionales con la secuencia de TOK1 para predecir su estructura cuaternaria y poder ver la relación que la estructura tiene en la función de la toxina. Finalmente, se volvieron a inducir las mutantes en el canal y se realizó la medición de distancias entre cisteínas, para poder tener un promedio de distancias y así poder deducir si estas están formando o no puentes disulfuro entre ellas, contribuyendo con ello a la estabilidad del canal. Todo esto con el uso de herramientas como PYMOL, Swiss-model y programas de alineamiento como BLASTn, BLASTp y MUSCLE.

# Resultados

En la figura 1 podemos observar los resultados del modelaje estructural que se realizó en el laboratorio utilizando SWISS-MODEL. Esta herramienta es capaz de utilizar la secuencia de cualquier proteína (en este caso TOK1) y buscar en la base de datos secuencias y estructuras que serán utilizadas para la minimización y obtención del modelo predictivo de nuestra proteína de interés. En el panel A, se puede apreciar el modelo de TOK1 con respecto a TREK1 canal de potasio presente en mamíferos. En B, se observa la estructura de TREK1. En C, podemos observar

al canal de potasio TWIK1 que consta de 2 regiones de poro en tándem (semejante a TOK1) y en D, un transportador de potasio de levadura TRKA. En la parte posterior de la figura podemos observar las regiones de poro de cada una de las estructuras. Es evidente la semejanza estructural de las regiones de poro, debido a que son regiones conservadas sin importar la especie o el tipo de canal. Esto finalmente nos habla de un buen acercamiento en la predicción de estructura de TOK1. Este acercamiento estructural también nos da idea de como se encuentran las zonas en las que posiblemente la toxina interactúa, así como distancias y localización de las cisteínas de interés.

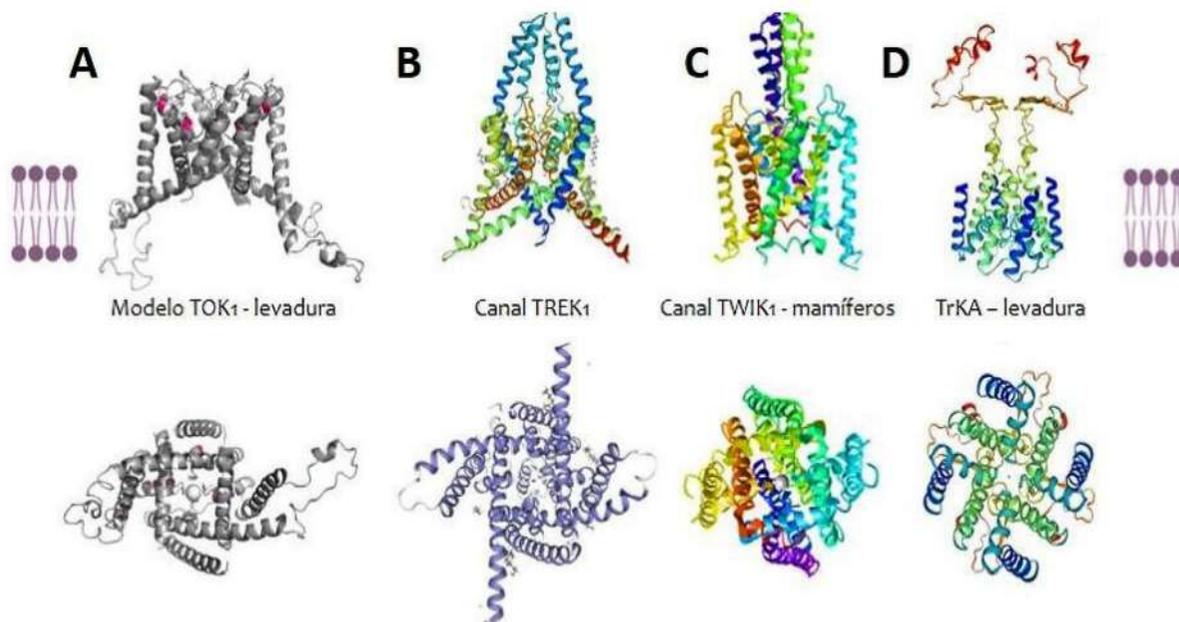


Figura 1. Modelaje estructural TOK1. En A se muestra una estructura minimizada por SWISS MODEL, del Canal TOK1. Podemos ver comparativamente, la semejanza estructural con las estructuras cristalizadas en B y C se pueden observar las estructuras de (TREK1, TWIK1) utilizadas para realizar el modelo que predice la estructura por minimización de TOK1 in silico. En D, se aprecia la estructura de un transportador de potasio presente en levaduras. Y en la parte posterior se pueden observar las regiones de poro las cuales presentan una estructura conservada tanto en canales (A, B, C) como en transportadores (D).

En la figura 2, podemos observar en la sección A, el mapa topográfico realizado con base a la secuencia de aminoácidos de TOK1. En verde se puede ver la localización de las 13 cisteínas presentes en el canal, evidenciando la basta e irregular presencia de esta. Además de mostrar la ubicación de la escisión y las secuencias de los *primers* para obtener TOKA y TOKB. En la parte B, se presenta la representación en el mapa topográfico, de la separación de las regiones de poro 1 y 2 en TOK1A y TOK1B. En el mismo sentido, en color rojo se puede observar las cisteínas de interés presentes en esos sitios. En el apartado C, podemos observar los resultados de la mutagénesis dirigida *in silico* de cisteínas (7, 9, 10, y 11) por metioninas. Además del

valor original de  $\Delta G$  y los cambios en dichos valores dependiendo de la cisteína analizada. Remarcado en amarillo, se pueden observar los valores de las cisteínas seleccionadas. Valores que fueron escogidos por no estar relacionados con el mantenimiento estructural del canal. Además, en D se muestra una figura editada de Gier 2019, que muestra la importancia de las cisteínas que contienen la toxina. Estas cisteínas (6) tienen diversas funciones. En la subunidad alfa, están relacionadas a la inmunidad de las células productoras a su propia toxina y en la subunidad beta, las cisteínas tienen el papel de unión a células de levaduras intactas y también de unión a esferoplastos.

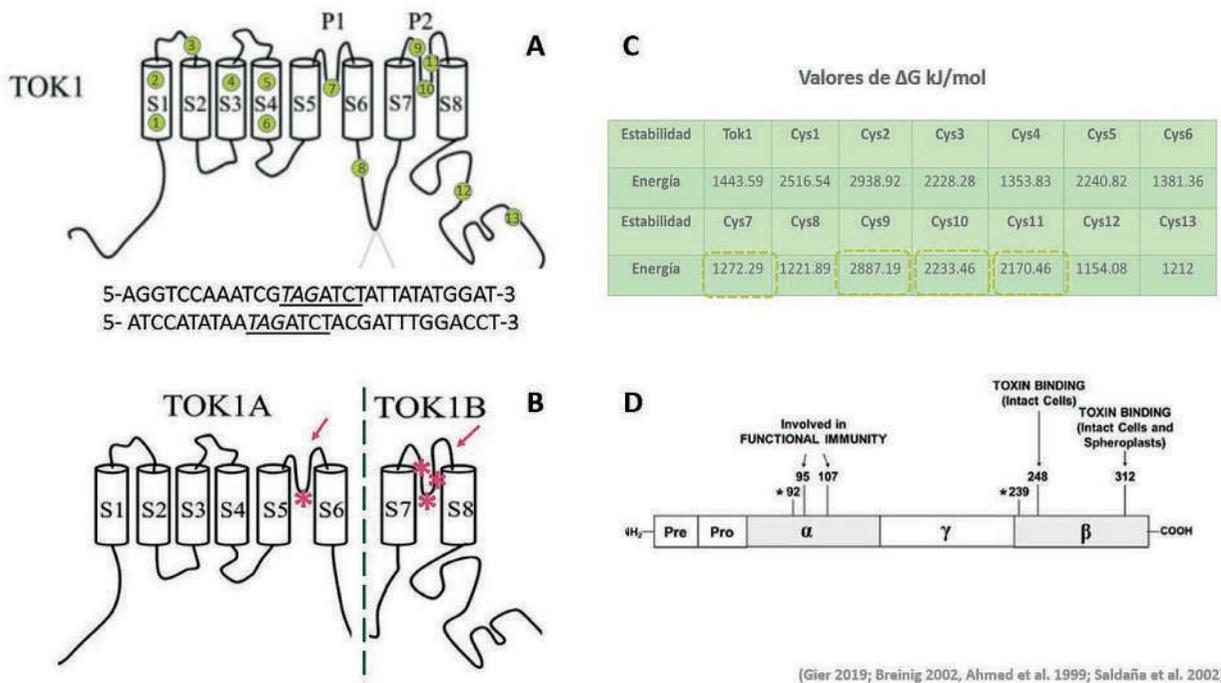


Figura 2. Análisis de selección de cisteínas. A se muestra el mapa topográfico con las 13 cisteínas y los *primers* para la construcción TOK1A y TOK1B. En B, la representación del sitio de "corte" para la adquisición de TOK1A (6 cruces transmembrana y 1 región de poro) y TOK1B (dos cruces transmembrana y 1 región de poro), así como las cisteínas presentes en ambos segmentos. C y D, muestran los criterios de selección para la mutagénesis de cisteínas.

## Discusión

Hasta el momento con base a la literatura y en cuanto a la experimentación por medio de mutagénesis dirigida, podemos inferir que el canal de potasio en su conformación tetramérica, presente en las construcciones TOK1A y TOK1B, contienen un diferente número de cisteínas en su estructura, para el caso de TOK1A hay cerca de 8 cisteínas en su conformación y para el caso de TOK1B, hay alrededor de 5 cisteínas. Nuestros resultados experimentales, podrán mostrar si la separación de las cisteínas produce un cambio en la sensibilidad a la toxina K1, poniendo de manifiesto cual es el papel de cada una de ellas en el efecto *Killer*. Con respecto a los análisis bioinformáticos realizados, hasta el momento no ha sido publicado ningún modelaje de este tipo con el cual poder comparar los resultados obtenidos. Sin embargo, es importante mencionar que el modelaje es el acercamiento más probable para la interacción de TOK1 y K1, debido a que ninguna de las dos proteínas cuenta con una estructura cristalográfica. Por lo tanto, la minimización de estructura con proteínas homólogas (como el caso de TWIK1 y TREK1 ambas proteínas caracterizadas como canales de potasio con dos dominios de poro en tándem), permitirán realizar por primera vez, un probable mecanismo de interacción que explique el fenómeno *Killer*, así como el mecanismo por el cual K1 puede ser tan eficiente al interactuar con microorganismo procarionotas.

## Conclusiones

Los análisis *in silico*, permiten obtener modelos por minimización de estructura del canal TOK1, así como de las versiones construidas previamente denominadas como TOK1A y TOK1B (SaldañaC 2002). Los modelos teóricos permiten estudiar la potencial interacción entre K1 y TOK1, así como de sus variantes para determinar, cual es el papel de las cisteínas en cada uno de sus dominios de poro y su efecto en la interacción con K1. Por el momento, se están realizando las pruebas microbiológicas de sensibilidad a la toxina K1, en las variantes de TOK1, TOK1A y TOK1B. Se genera la perspectiva de poder realizar estudios electrofisiológicos para realizar determinaciones cuantitativas de la actividad eléctrica producida por la K1 y asociarlo al fenómeno *Killer*.

## Financiamiento y agradecimientos

RVJ es becaria del CONACyT número: 1003112. Este proyecto cuenta con financiamiento de: 1. SEP-CONACyT Ciencia básica número: A1-S-26966. 2. CONACyT LAVIS-UAQ. 3. FODEC 2019.

Agradecemos a la Unidad de Proteogenómica de la INB-UNAM por el apoyo logístico.

# Literatura Citada

- Ahmed, A., F. Sesti, N. Ilan, T. M. Shih, S. L. Sturley, y S. A. Goldstein. 1999. *Cell* 99 (3): 283-91.
- Liu, Guang-Lei, Zhe Chi, Guang-Yuan Wang, Zhi-Peng Wang, Yang Li, y Zhen-Ming Chi. 2015. *Critical Reviews in Biotechnology* 35 (2): 222-34.
- Bussey, H. 1991. *Molecular Microbiology* 5 (10): 2339-43.
- Breinig, Frank, Donald J. Tipper, y Manfred J. Schmitt. 2002. *Cell* 108 (3): 395-405.
- Bevan, E. A., A. J. Herring, y Diane J. Mitchell. 1973. *Nature* 245 (5420): 81-86.
- Gier, Stefanie, Matthias Lermen, Manfred J. Schmitt, y Frank Breinig. 2019. *Scientific Reports* 9 (1): 13127.
- Ketchum, Karen A., William J. Joiner, Andrew J. Sellers, Leonard K. Kaczmarek, y Steve A. N. Goldstein. 1995. *Nature* 376 (6542): 690-95.
- Peña, P. de la, F. Barros, S. Gascón, P. S. Lazo, y S. Ramos. 1981. *The Journal of Biological Chemistry* 256 (20):10420-2.
- Saldaña, Carlos, David Naranjo, Roberto Coria, Antonio Peña, y Luis Vaca. 2002. *Journal of Biological Chemistry* 277 (7): 4797-4805.
- Schmitt, M. J., y P. Compain. 1995. *Archives of Microbiology* 164 (6): 435-43.
- Schmitt, Manfred J., y Frank Breinig. 2006. *Nature Reviews Microbiology* 4 (3): 212-
- Sesti, Federico, Theodore M. Shih, Natalia Nikolaeva, y Steve A.N. Goldstein. 2001. *Cell* 105 (5): 637-44.

# Evaluación de indicadores antropométricos y consumo dietético como predictores de riesgo cardiovascular en varones de 19-50 años con sobrepeso u obesidad

*Rebolledo Valle L. T.*

*Martínez Peña M. G.*

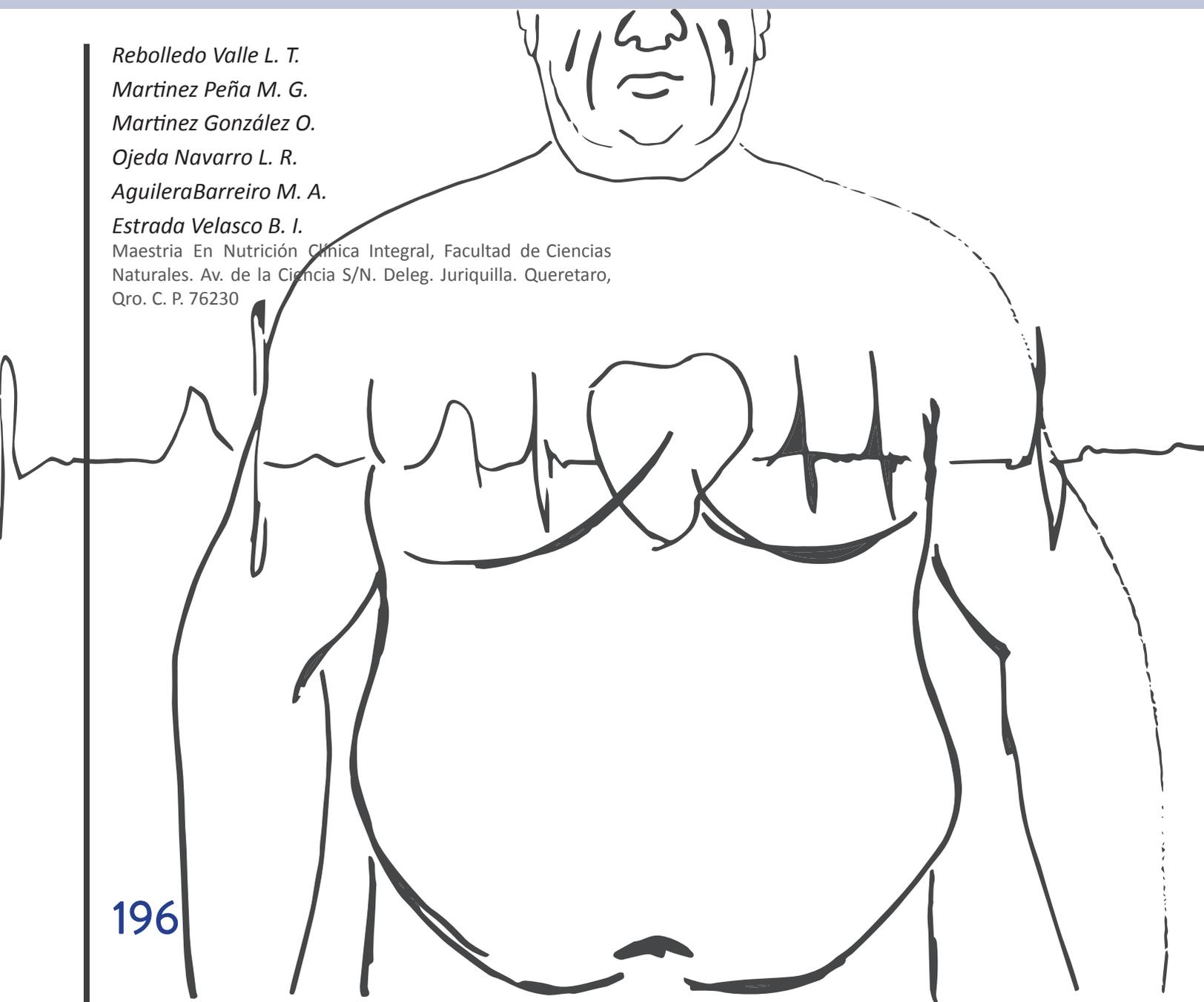
*Martínez González O.*

*Ojeda Navarro L. R.*

*Aguilera Barreiro M. A.*

*Estrada Velasco B. I.*

Maestría En Nutrición Clínica Integral, Facultad de Ciencias Naturales. Av. de la Ciencia S/N. Deleg. Juriquilla. Queretaro, Qro. C. P. 76230



# Introducción

El exceso de peso es uno de los principales factores asociado al desarrollo de enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes mellitus, infertilidad y cáncer, las cuales representan la mayor carga de salud en los países industrializados y son un problema que crece con rapidez en los países subdesarrollados.

Según datos del INEGI 2018 en México las defunciones causadas por enfermedades del corazón han ocupado el primer lugar entre las principales causas durante varios años, entre ellas, destacan las enfermedades isquémicas del corazón que presentan una alta incidencia entre la población que fallece a partir de los 45 años (149 368 casos).

Siendo prevenibles las enfermedades cardiovasculares de mayor incidencia se debe diagnosticar a la población que tenga factores de riesgo como estilos de vida poco saludables que incluyen mala alimentación, elevado consumo de bebidas alcohólicas, bebidas azucaradas, fumar, e inactividad física y tomando medidas de acción para referirlos a profesionales como nutriólogo, médico, psicólogo o fisioterapeuta que puedan apoyar en reducir esta problemática.

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en 2018 reportó que el porcentaje de hombres adultos de 20 años y más con sobrepeso y obesidad es de 73% (42.5 % sobrepeso y 30.5% obesidad) en comparación con el año 2012 en el que este grupo poblacional tenía una prevalencia total de 69.4% (42.6% sobrepeso y 26.8%

en obesidad) siendo el diagnóstico de obesidad el que aumenta 3.7 puntos porcentuales, dejando claro que se necesita realizar acciones oportunas para disminuir estas cifras que año con año han ido en aumento.

Se entiende como factor de riesgo a cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión, misma definición que es válida para los factores de riesgo cardiovascular que históricamente se han dividido en modificables y no modificables. (Zannad et al 2008).

Uno de los principales factores de riesgo cardiovascular es el sobrepeso y la obesidad debido a las alteraciones metabólicas que implican, principalmente el metabolismo lipídico. Un balance energético positivo y un descenso en la actividad física son las principales causas para un aumento de peso y grasa corporal. La alimentación actual se compone en su mayoría de productos industrializados y alimentos con alta densidad energética por lo que la epidemia de la obesidad ha ido en aumento año con año. La población masculina no es la excepción ya que las comidas fuera de casa y los excesos de bebidas azucaradas y/o alcohólicas predisponen a este grupo a problemas relacionados con el peso.

Según la encuesta más reciente de nutrición, la prevalencia de obesidad abdominal en adultos de 20 o más años de edad es de 76.6%. Al categorizar por sexo, la prevalencia de obesidad abdominal en hombres es de 65.4% es decir más de la mitad de la población de varones tiene acumulación excesiva de grasa abdominal. (ENSANUT 2018).

Actualmente existe un interés creciente por encontrar métodos sencillos para categorizar la masa grasa y sus cambios, ya que los índices generalmente usados como marcadores de exceso de grasa corporal están sujetos a limitaciones. (Gómez Campos, R et al 2018)

En un estudio realizado en el Noroeste de México en el que el objetivo era validar la fórmula de Masa Grasa Relativa (MGR) en esta población mexicana los hallazgos fueron que, en comparación con el IMC, la MGR fue un mejor predictor de porcentaje de grasa corporal % determinado por cada uno de los métodos de composición corporal. (Guzmán-León et al, 2019).

La circunferencia de cintura es considerada otro indicador para detectar posibles riesgos de salud relacionados con la acumulación de grasa. Cuando una persona presenta obesidad abdominal, la mayor parte de su grasa corporal se encuentra en la cintura, por lo tanto, tiene mayor riesgo de sufrir enfermedades crónicas no transmisibles como son la Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensión, ataques cardíacos, entre otros. (Seo DC, 2017).

Uno de los principales factores al cual se atribuyen las causas de sobrepeso y de obesidad se ha debido al aumento en el consumo de alimentos hiperenergéticos, ricos en grasas, sal y azúcar y bajos en vitaminas, minerales y fibra; así como el descenso en la actividad física originado por los modelos de urbanización y sedentarismo de la población (Shama Levy et al, 2015). Es por ello que la realización del presente estudio es de importancia para evaluar el IMC,

ICC, MGR y PGC como factores de riesgo cardiometabólico asociado a bajo consumo de fibra, elevado consumo de grasa saturada, sodio, colesterol y azúcares simples

## Metodos

El diseño del estudio es retrospectivo descriptivo. En donde se evaluaron los expedientes clínicos pertenecientes a hombres entre 19-50 años con sobrepeso u obesidad que hayan asistido a la consulta nutricional en la Clínica Universitaria de Nutrición “Dr. Carlos Alcocer Cuarón” en el periodo el 2014 a diciembre 2019.

Debido a que no se cuentan con estudios previos sobre los cuales basar el cálculo de muestra, se optó por realizar un muestreo por conveniencia en el que se contemplan la totalidad de los pacientes que cumplían con los criterios de inclusión en los expedientes de la Clínica Universitaria (n=178).

### *Criterios de inclusión*

- Expedientes completos registrados del año 2014 al 2019.
- Expedientes de pacientes varones con edades entre 19 y 50 años.
- Expedientes de pacientes con IMC >24.5 considerado limítrofe.

### *Criterios de exclusión*

- Pacientes en normopeso.
- Criterios de eliminación
- Expedientes con información incompleta.

Se revisaron los expedientes físicos de todos los pacientes ambos sexos que acudieron a consulta del 2014-2019 (Total :663 expedientes ambos sexos) posteriormente se seleccionaron los pacientes varones (Total: 218 expedientes de varones) y de este subconjunto se seleccionaron aquellos en donde los pacientes cumplieran con los criterios de inclusión.

La información de los expedientes clínicos, mediciones antropométricas y encuestas dietéticas fueron recabadas por nutriólogos estandarizados y nutriólogos estudiantes de maestría quienes realizaron la consulta de nutrición durante el tiempo de intervención que se consideran en esta investigación, lo cual disminuye el sesgo en la información.

Se recolectaron las variables INDICAR QUE VARIABLES SE RECOLECTARON para la creación de la base de datos. fueron las pasantes de servicio social de la licenciatura en nutrición y las investigadoras previamente capacitadas para lograr reducir el sesgo de los datos de la historia clínica. Los recordatorios de 24 horas fueron analizados mediante la aplicación Nutrein; herramienta informática que tiene como referencia el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes.

Se realizó una base de datos en el programa de Excel para posteriormente analizar los datos en el programa estadístico SPSS PASW Statistics 18.0.

## Resultados y discusión

**Cuadro1: Características antropométricas de 178 pacientes de la clínica de nutrición “Dr. CarlosAlcocer Cuarón”.**

<b>N=178</b>	<b>Media</b>	<b>De</b>	
Edad	30.1	±	9.5
Talla	172.0	±	6.5
Peso (kg)	90.0	±	15.7
Circunferencia de cintura (cm)	101.3	±	12.7
Cadera (cm)	115.5	±	104.6
Indice cintura/cadera	0.9	±	0.1
Grasa corporal (%)	26.5	±	5.8
Formula masa grasa relativa (%)	29.1	±	5.4

**Cuadro 2: Características de consumo dietético de 178 pacientes de la clínica de nutrición “Dr.Carlos Alcocer Cuarón”.**

<b>N=178</b>	<b>Media</b>	<b>De</b>
Kilocalorias totales	2121.5	± 546.2
Grasas (g)	76.9	± 27.6
Grasas saturadas (g)	4.0	± 3.7
Grasas monoinsaturadas (g)	12.4	± 8.0
Grasas poliinsaturadas (g)	5.5	± 3.6
Proteínas totales (g)	96.6	± 27.6
Hidratos de carbono (g)	265.4	± 81.7
Azúcares (g)	59.5	± 43.3
Fibra (g)	19.3	± 9.8
Vita (µg)	693.2	± 1213.7
Vitc (mg)	101.5	± 115.9
Vitb9 (mg)	189.3	± 148.8
Carga glicémica	185.6	± 227.6
Colesterol (mg)	317.5	± 232.4
Potasio (mg)	982.0	± 690.3
Sodio (mg)	1829.0	± 1418.8
Calcio (mg)	964.6	± 468.6
Selenio (mg)	53.8	± 40.5
Índice glicémico	686.2	± 353.7
Carga glicémica	185.6	± 227.6

De acuerdo a los resultados obtenidos de los análisis estadísticos del total de datos, la edad promedio obtenida en la población fue de 30.1±9.5 años de edad, el índice de Masa corporal promedio es de 30.3± 4.4 y la circunferencia de cintura de 101.3± 12.7.

El 53.9% de la población fueron jóvenes de 19 a 39 años lo cual llama aún más la atención los resultados obtenidos por que el hecho de tener factores de riesgo cardiovascular a edad tempranas aumenta la probabilidad de tener enfermedades cardiovasculares.

En cuanto a los antecedentes heredofamiliares que se encontraban presentes en más de

la mitad de la población destacan Diabetes tipo 2 e Hipertensión arterial 77.5% y 56.2% respectivamente.

Los antecedentes personales patológicos que destacan hipertensión, dislipidemia y enfermedades gastrointestinales 11.8%, 11.8% y 23.6% respectivamente.

Los datos de consumo dietéticos nos muestran que los azúcares simples exceden en un 200% lo recomendado para la población adulta (<6 cucharaditas al día) siendo la media de 59.5± 43.3 gramos lo cual equivale a 12 cucharaditas de azúcar por día. La principal fuente de este macronutriente es debido al alto consumo de bebidas

azucaradas lo cual concuerda con un estudio realizado en México en el que el sexo masculino fue más propenso a consumir elevadas cantidades calóricas provenientes de bebidas gaseosas (Velázquez Sánchez JA., 2020).

El consumo de fibra promedio de la población es de  $19.3 \pm 9.8$  g siendo lo recomendado entre 30- 35 g este nutrimento no cumple con la ingesta mínima por lo cual el efecto cardioprotector que ejerce sería escaso o nulo.

Por otra parte, el sodio el cual es un micronutriente que en exceso esta altamente relacionado a enfermedades cardiometabólicas se consumió en promedio  $1829 \pm 148.8$  mg al día, la ingesta diaria recomendada es de  $<2000$  mg de sodio al día.

## Conclusión

Se encontró que la población estudiada tiene una alimentación escasa en nutrientes cardioprotectores y por el contrario un elevado consumo de nutrientes asociados a enfermedades cardiovasculares como infarto al miocardio e hipertensión.

Los parámetros antropométricos principalmente circunferencia de cintura media deben de tomarse en cuenta para la evaluación correcta de la población y de esta manera prevenir posibles riesgos asociados a grasa visceral.

La masa grasa relativa es una fórmula que para hombres  $RFM = 64 - (20 \times \text{altura m} / \text{Circunferencia de cintura cm})$  tiene gran importancia debido a la estimación que hace de la grasa corporal total, siendo una opción útil para cuando no se cuenta con una herramienta de bioimpedancia.

## Literatura Citada

- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2018) [https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut\\_2018\\_presentacion\\_resultado\\_s.pdf](https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultado_s.pdf)
- Gómez Campos, R., Pacheco Carrillo, J., Almonacid Fierro, A., Urra Albornoz, C., & Cossío-Bolaños, M. (2018). Validación de ecuaciones y propuesta de valores referenciales para estimar la masa grasa de jóvenes universitarios chilenos. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 65(3), 156–163.
- Guzmán-León AE, Velarde AG, Vidal-Salas M, Urquijo-Ruiz LG, Caraveo-Gutiérrez LA, Valencia ME (2019) External validation of the relative fat mass (RFM) index in adults from north-west Mexico using different reference methods. *PLoS ONE* 14(12): e0226767.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Estadísticas del Sector Salud y Seguridad Social. CARACTERÍSTICAS DE LAS DEFUNCIONES REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE 2018. COMUNICADO DE PRENSA NÚM.538/19. México, D.F.
- Shamah Levy T., Amaya Castellanos MA, Cuevas Nasu L. (2015) Desnutrición Y Obesidad: Doble Carga En México.
- Revista Digital Universitaria. 2015; 16(5): 1-17....
- Seo DC, Choe S, Torabi MR. Is waist circumference  $\geq 102/88$ cm better than body mass index  $\geq 30$  to predict hypertension and diabetes development regardless of gender, age group, and race/ethnicity? Meta-analysis. *Prev Med.* 2017 Apr;97:100-108.98
- VELAZQUEZ SANCHEZ JA. (2020) Consumo de bebidas gaseosas y su relación con marcadores de riesgo cardiovascular en adultos de San Luis Potosí (Tesis). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
- Woolcott 2018 Relative fat mass (RFM) As a new estimator 2018.pdf.

# Análisis transcriptómico de la regeneración de *Lumbriculus variegatus*

*Téllez García, AA*

Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

*Álvarez Martínez, RC*

-Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

-Licenciatura en Microbiología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

-Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

*López Martínez, JM*

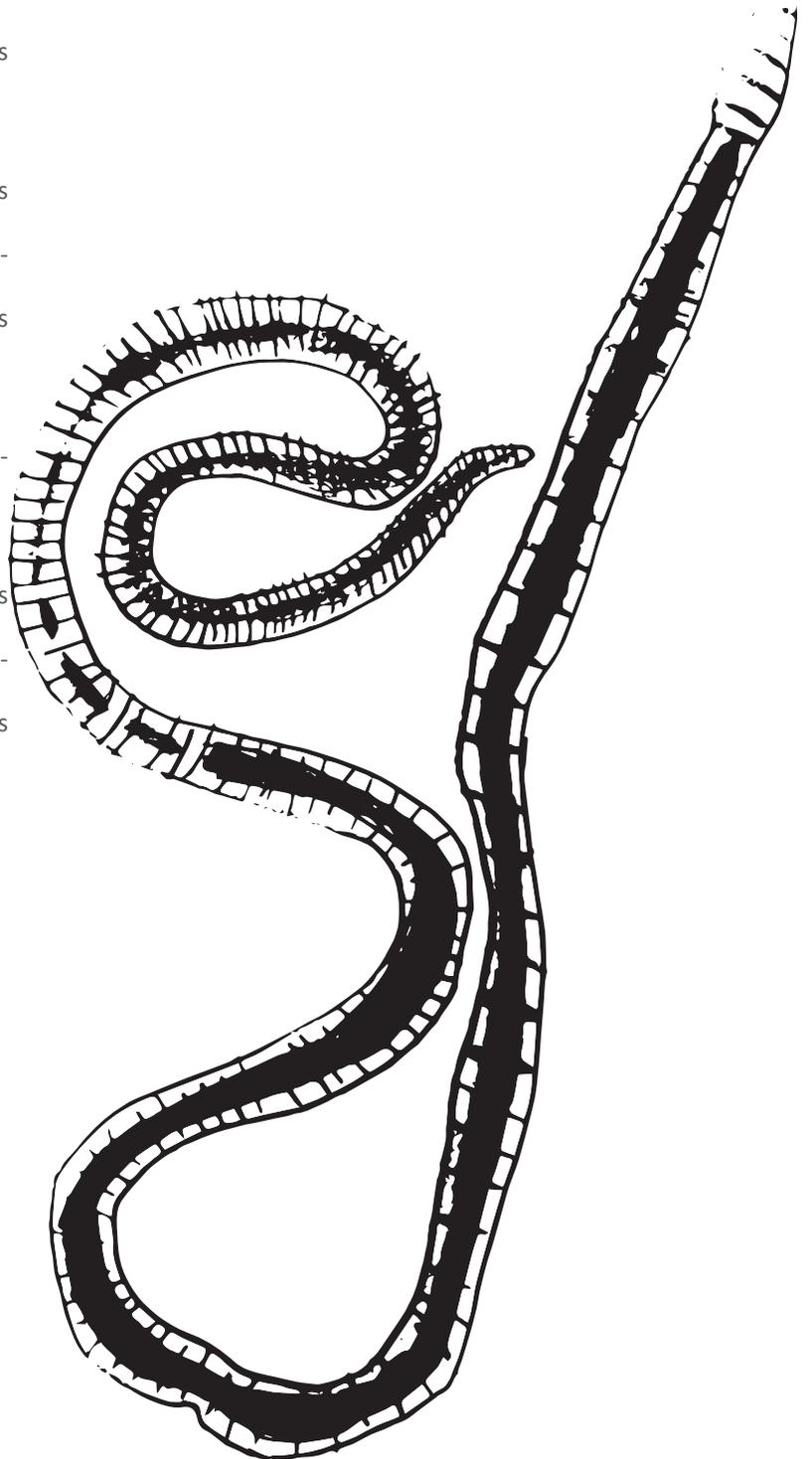
Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

*Arellano Carbajal, F*

-Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

-Licenciatura en Microbiología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

-Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.



# Introducción

La regeneración corporal es una respuesta bastante común en los animales luego de sufrir una lesión traumática o presentar autotomía (Bely & Nyberg, 2010). Entre los anélidos existe una gran variabilidad en cuanto al potencial regenerativo: algunas especies no son capaces de regenerar, otras pueden regenerar solamente la región posterior y, otras tantas, tienen la capacidad de regenerar ambas regiones (Özpolat & Bely, 2016; Zattara & Bely, 2016). De manera similar, la mayoría de los anélidos restituyen las partes corporales perdidas por medio de un proceso conocido como epimorfosis, el cual implica la formación de un blastema compuesto por células no diferenciadas y la subsecuente diferenciación de esta estructura (Bely, 2014). Sin embargo, en algunas especies, la regeneración epimórfica está acompañada de otro proceso conocido como morfaxis, en el cual los tejidos no perdidos sufren cambios arquitectónicos que les dan nuevas identidades para restituir los tejidos perdidos (Özpolat & Bely, 2016). No obstante, sin importar qué región corporal deba ser restituida o de qué manera se lleve a cabo esta restitución, la regeneración depende ampliamente de la activación transcripcional de genes que regulan este proceso (Özpolat & Bely, 2016).

¿Qué genes y mecanismos moleculares están implicados en la regeneración de los anélidos? En las últimas dos décadas se han determinado los patrones de expresión de varios genes que se consideraron candidatos debido a que su expresión se encontró asociada previa-

mente a la regeneración en otros grupos taxonómicos (e.g., de Jong & Seaver, 2016; Kozin & Kostyuchenko, 2015; Tadokoro et al., 2006). Este tipo de trabajos han permitido corroborar la existencia de redes de regulación génica comunes para los anélidos y otros grupos animales, pero tienen la debilidad de ser poco eficientes para reconocer genes y redes únicos para los anélidos o para identificar grandes grupos de genes que participan en conjunto durante la regeneración. En cambio, solo Myohara et al. (2006) y Ribeiro et al. (2019) han llevado a cabo análisis de perfiles de expresión de alto rendimiento con los que han identificado grandes cantidades de genes diferencialmente expresados durante este proceso. De esta manera, resulta importante llevar a cabo más estudios transcriptómicos en los que se analicen los perfiles de expresión génica en otras especies de anélidos, para así determinar si existe un programa genético común en los anélidos y compararlo con los de otros grupos.

En este trabajo se analizó el perfil transcripcional durante la regeneración de *Lumbricus variegatus* (Clitellata: Lumbriculida), una especie de lombriz dulceacuícola capaz de regenerar las regiones anterior y posterior del cuerpo. Este análisis se basó en la identificación de genes diferencialmente expresados durante las primeras 72 horas post amputación. Asimismo, se generó el primer transcriptoma anotado para esta especie, el cual incluye genes provenientes de tejidos regenerantes. Este trabajo se encuentra actualmente publicado (Tellez-García et al., 2021).

# Métodos

El protocolo de investigación de este trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales (54FCN2018). Las lombrices con las cuales se llevaron a cabo los experimentos fueron adquiridas por medio de un proveedor comercial (Aquarem) y se mantuvieron dentro del laboratorio en contenedores de plástico con agua purificada, alimentándose con espirulina en polvo.

Se establecieron dos grupos experimentales: un grupo regenerante (GR) y un grupo no regenerante (GN). Las lombrices del GR fueron cortadas aproximadamente por la mitad del cuerpo y se mantuvieron a 20 °C en tres periodos de regeneración (PR; 24 h, 48 h y 72 h). Las lombrices del GN fueron tratadas igual que las lombrices del GR pero no fueron cortadas. Después de terminados los PR, las lombrices fueron colectadas y se les extrajo el ARN total para su secuenciación. Las muestras de ARN se enviaron a la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática, UNAM, para su secuenciación. Las librerías se prepararon con el protocolo Illumina TruSeq Stranded mRNA y se secuenciaron con la plataforma Illumina NextSeq500.

Las lecturas provenientes de la secuenciación fueron verificadas en cuanto a su calidad y limpiadas, para después llevar a cabo un ensamblaje con ellas utilizando el programa Trinity (Haaset al., 2013). El transcriptoma ensamblado fue evaluado con BUSCO (Simão et al., 2015) para examinar su grado de fragmentación, comparando el transcriptoma con

una base de datos de ortólogos de metazoos. El transcriptoma fue anotado funcionalmente con Trinotate (Bryant et al., 2017). Se identificaron las secuencias codificantes y las secuencias peptídicas de las proteínas predichas; se le asignó una identidad con anotaciones ontológicas a ambas secuencias por medio de alineamientos con la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot; y se predijo la presencia de dominios proteicos, péptidos señal y regiones transmembranales. Asimismo, se identificó la presencia de ARNs no codificantes con RNAsamba (Camargo et al., 2020) y se buscó la presencia de ARNs largos no codificantes por medio de alineamientos con una base de datos generada en NONCODE ([www.noncode.org](http://www.noncode.org)).

La cuantificación de los transcritos se llevó a cabo con kallisto (Bray et al., 2016), utilizando el transcriptoma ensamblado como referencia para el pseudoalineamiento de las lecturas. Con los datos de la cuantificación, se llevó a cabo un análisis de expresión diferencial a nivel de transcritos con sleuth (Pimentel et al., 2017).

Finalmente se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento de ontologías genéticas de la regeneración a partir de los transcritos diferencialmente expresados. Con ClueGO (Bindea et al., 2009) se buscaron las categorías ontológicas y vías de señalización enriquecidas en la regeneración.

# Resultados y Discusión

Se generó un transcriptoma con 138,008 genes, 164,769 transcritos y 65,692 proteínas predichas. 40,037 proteínas predichas fueron identificadas en la base de datos UniProtKB/Swiss-Prot y 36,494 tuvieron anotaciones de ontologías genéticas. De acuerdo con los resultados de BUSCO, 97.7% de los genes ortólogos que se espera estén en los metazoos están presentes en el transcriptoma y el 83% están completos. Estos porcentajes son muy similares a los obtenidos en otros transcriptomas de anélidos (e.g., Ponz-Sagrelles et al., 2018; Ribeiro et al., 2019), lo cual indica que la mayoría de los genes del transcriptoma están relativamente bien representados. En el análisis de RNAsamba se identificaron 44,097 potenciales RNAs largos no codificantes. De estos, el 88.72% correspondió a transcritos en los que no se identificaron secuencias codificantes y 83 tuvieron alineamientos significativos con la base de datos de NONCODE.

En el análisis de expresión diferencial se identificaron 136 transcritos diferencialmente expresados, 25 de ellos estuvieron subexpresados y 111 estuvieron sobreexpresados. 13 transcritos clasificados como RNAs largos no codificantes estuvieron sobreexpresados. Entre los transcritos diferencialmente expresados, se encontraron tres cuyos genes codificantes se ha observado participan en la regeneración y mantenimiento de células troncales en otros animales: BMI-1 (Fukuda et al., 2012; Lopez-Arribillaga et al., 2015), Hsp60 (Li et al., 2014; Pei et al., 2016) y vdr (de la Fuente et al.,

2015; Han et al., 2019; Srikuea et al., 2012). Por otro lado, se identificaron otros tres transcritos sobreexpresados cuya sobreexpresión también se ha reportado en la regeneración de otros anélidos: BHMT, AIRC o paics y fbl (Myohara et al., 2006; Ribeiro et al., 2019).

El análisis de enriquecimiento de ontologías genéticas mostró que el metabolismo de aminoácidos, compuestos glicosilados, glucosa, ARN y hormonas estuvieron enriquecidos durante las primeras 72 h. Myohara et al. (2006) han mostrado que durante la regeneración de *Enchytraeus japonensis* varias enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos se encuentran diferencialmente expresadas. En este sentido, un estudio metabolómico es oportuno para comprender el papel de estas enzimas en la regeneración de los anélidos.

## Conclusiones

Con el presente trabajo se pone a disposición el primer transcriptoma anotado de la regeneración de *L. variegatus*, el cual se suma al de otros anélidos para llevar a cabo estudios comparativos en este y otros temas. Mediante el análisis de expresión diferencial se encontraron algunos genes, ahora candidatos de la regeneración, cuya participación en este proceso requiere mayor investigación desde un punto de vista mecanístico: *bmi1b*, *Hsp60A* y *vdr*. Asimismo, se identificaron tres genes cuya expresión diferencial se había reportado anteriormente en análisis transcriptómicos de otros anélidos. Finalmente, los resultados del análisis

de ontologías genéticas abren preguntas acerca del papel que juega el metabolismo de aminoácidos en la regeneración de especies como *L. variegatus* y *E. japonensis*.

## Literatura citada

- Bely, A.E., 2014. Early events in annelid regeneration: a cellular perspective. *Integr. Comp. Biol.* 54 (4), 688–699.
- Bely, A.E., Nyberg, K.G., 2010. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends Ecol. Evol.* 25 (3), 161–170.
- Bindea, G., Mlecnik, B., Hackl, H., Charoentong, P., Tosolini, M., Kirilovsky, A., Fridman, W.-H., Pagès, F., Trajanoski, Z., Galon, J., 2009. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics* 25 (8), 1091–1093.
- Bray, N.L., Pimentel, H., Melsted, P., Pachter, L., 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat. Biotechnol.* 34 (5), 525–527.
- Bryant, D.M., Johnson, K., DiTommaso, T., Tickle, T., Couger, M.B., Payzin-Dogru, D., Lee, T.J., Leigh, N.D., Kuo, T.-H., Davis, F.G., Bateman, J., Bryant, S., Guzikowski, A. R., Tsai, S.L., Coyne, S., Ye, W.W., Freeman Jr., R.M., Peshkin, L., Tabin, C.J., Regev, A., Haas, B.J., Whitel, J.L., 2017. A tissue-mapped axolotl De novo transcriptome enables identification of limb regeneration factors. *Cell Rep.* 18 (3), 762–776.
- Camargo, A. P., Sourkov, V., Pereira, G. A. G., & Carazzolle, M. F. (2020). RNAsamba: neural network-based assessment of the protein-coding potential of RNA sequences. *NAR Genomics and Bioinformatics* 2(1), lqz024.
- de Jong, D.M., Seaver, E.C., 2016. A stable thoracic hox code and epimorphosis characterize posterior regeneration in *Capitella teleta*. *PLoS One* 11 (2), e0149724.
- de la Fuente, A.G., Errea, O., van Wijngaarden, P., Gonzalez, G.A., Kerninon, C., Jarjour, A.A., Lewis, H.J., Jones, C.A., Nait-Oumesmar, B., Zhao, C., Huang, J.K., French-Constant, C., & Franklin, R. J. M., 2015. Vitamin D receptor–retinoid X receptor heterodimer signaling regulates oligodendrocyte progenitor cell differentiation. *J. Cell Biol.* 211 (5), 975–985.
- Fukuda, A., Morris, J. P., & Hebrok, M. (2012). Bmi1 Is Required for Regeneration of the Exocrine Pancreas in Mice. *Gastroenterology*, 143(3), 821-831.e2.
- Haas, B.J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P.D., Bowden, J., Couger, M.B., Eccles, D., Li, B., Lieber, M., MacManes, M.D., Ott, M., Orvis, J., Pochet, N., Strozzi, F., Weeks, N., Westerman, R., William, T., Dewey, C.N., Henschel, R., LeDuc, R.D., Friedman, N., Regev, A., 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the trinity platform for reference generation and analysis. *Nat. Protoc.* 8 (8), 1494–1512.
- Han, Y., Chen, A., Umansky, K.-B., Oonk, K. A., Choi, W.-Y., Dickson, A. L., Ou, J., Cigliola, V., Yifa, O., Cao, J., Tornini, V. A., Cox, B. D., Tzahor, E., & Poss, K. D. (2019). Vitamin D Stimulates Cardiomyocyte Proliferation and Controls Organ Size and Regeneration in Zebrafish. *Developmental Cell* 48(6), 853-863.e5.
- Kozin, V.V., Kostyuchenko, R.P., 2015. Vasa, PL10,

- and *Piwi* gene expression during caudal regeneration of the polychaete annelid *Alitta virens*. *Dev. Genes Evol.* 225 (3), 129–138.
- Li, L., Zhai, S., Wang, L., Si, S., Wu, H., Chang, Z., 2014. Hsp60 in caudal fin regeneration from *Paramisgurnus dabryanus*: molecular cloning and expression characterization. *Fish & Shellfish Immunology* 36 (2), 401–408.
- Lopez-Arribillaga, E., Rodilla, V., Pellegrinet, L., Guiu, J., Iglesias, M., Roman, A.C., Gutarra, S., González, S., Muñoz-Cánoves, P., Fernández-Salguero, P., Radtke, F., Bigas, A., Espinosa, L., 2015. *Bmi1* regulates murine intestinal stem cell proliferation and self-renewal downstream of notch. *Development* 142 (1), 41–50.
- Myohara, M., Niva, C.C., Lee, J.M., 2006. Molecular approach to annelid regeneration: cDNA subtraction cloning reveals various novel genes that are upregulated during the large-scale regeneration of the oligochaete, *Enchytraeus japonensis*. *Dev. Dyn.* 235 (8), 2051–2070.
- Özpolat, B.D., Bely, A.E., 2016. Developmental and molecular biology of annelid regeneration: a comparative review of recent studies. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 40, 144–153.
- Pei, W., Tanaka, K., Huang, S.C., Xu, L., Liu, B., Sinclair, J., Idol, J., Varshney, G.K., Huang, H., Lin, S., Nussenblatt, R.B., Mori, R., Burgess, S.M., 2016. Extracellular HSP60 triggers tissue regeneration and wound healing by regulating inflammation and cell proliferation. *Npj Regenerative Medicine* 1 (1), 16013.
- Pimentel, H., Bray, N.L., Puente, S., Melsted, P., Pachter, L., 2017. Differential analysis of RNA-seq incorporating quantification uncertainty. *Nat. Methods* 14 (7), 687–690.
- Ponz-Segrelles, G., Bleidorn, C., Aguado, M.T., 2018. Expression of *vasa*, *piwi*, and *nanos* during gametogenesis in *Typosyllis antoni* (Annelida, Syllidae). *Evolution & Development* 20 (5), 132–145.
- Ribeiro, R.P., Ponz-Segrelles, G., Bleidorn, C., Aguado, M.T., 2019. Comparative transcriptomics in Syllidae (Annelida) indicates that posterior regeneration and regular growth are comparable, while anterior regeneration is a distinct process. *BMC Genomics* 20 (1), 855.
- Simão, F.A., Waterhouse, R.M., Ioannidis, P., Kriventseva, E.V., Zdobnov, E.M., 2015. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. *Bioinformatics* 31 (19), 3210–3212.
- Srikuea, R., Zhang, X., Park-Sarge, O.-K., Esser, K.A., 2012. VDR and CYP27B1 are expressed in C2C12 cells and regenerating skeletal muscle: potential role in suppression of myoblast proliferation. *Am. J. Phys. Cell Phys.* 303 (4), C396–C405.
- Tadokoro, R., Sugio, M., Kutsuna, J., Tochinali, S., Takahashi, Y., 2006. Early segregation of germ and somatic lineages during gonadal regeneration in the annelid *Enchytraeus japonensis*. *Curr. Biol.* 16 (10), 1012–1017.
- Tellez-Garcia, A.A., Álvarez-Martínez R., López-Martínez, J.M., Arellano-Carbajal, F., 2021. Transcriptome analysis during early regeneration of *Lumbriculus variegatus*. *Gene Rep.* 23, 101050.
- Zattara, E.E., Bely, A.E., 2016. Phylogenetic distribution of regeneration and asexual reproduction in Annelida: regeneration is ancestral and fission evolves in regenerative clades. *Invertebr. Biol.* 135 (4), 400–414.

# Efecto del resveratrol en marcadores glucémicos y de inflamación en pacientes con diabetes mellitus

*Vargas-Hernández, S.*

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana, UAQ.

*Ronquillo-González, D.*

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana, UAQ.

*Oropeza-Ceja, L.G.*

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana, UAQ.

*Duarte-Vázquez, M.A.*

Nucitec, S.A. de C.V.

*Reserva de la UAQ*



# Introducción

En México, la prevalencia de diabetes reportada ha ido en incremento en la última década. En 2016 fue de 9.4% y en 2018 fue de 10.3% (Shamah-Levy T & Santaella-Castell JA, 2020) y se estima que el 46% de personas en México con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) no han sido diagnosticadas (International Diabetes Federation, 2017). Como parte del tratamiento de la diabetes están el uso de hipoglucemiantes orales, pero desafortunadamente la mayoría tienen efectos adversos que disminuyen la adherencia al tratamiento y, como consecuencia, no se logra el control óptimo de la enfermedad (González-Clemente, 2014). Las unidades de primer nivel de atención en México reportan que solo el 19% de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) tiene un adecuado control medido por medio de la hemoglobina glucosilada (HbA1c) (Masse, 2017). De aquí la necesidad de encontrar tratamientos coadyuvantes sin efectos adversos para la DM2.

El estudio de los fitoquímicos en las últimas décadas ha sido de gran interés por los beneficios asociados a la salud humana. Uno de estos compuestos es el resveratrol, el cual es un polifenol natural que se encuentra en alimentos como arándanos, moras, cacahuates, grosella, siendo el vino tinto donde se encuentra su mayor concentración. El resveratrol se ha estudiado por su posible función como potente antiinflamatorio (Koushki et al., 2018) y su posible efecto benéfico en marcadores glucémicos en personas con DM2 (Asgary et al., 2019).

Diversos estudios en humanos han evaluado el efecto del resveratrol sobre los marcadores glucémicos y de inflamación. En Hungría evaluaron el efecto del resveratrol (10 mg/día por 4 semanas) en 19 hombres con DM2, y observaron que el resveratrol disminuyó la resistencia a la insulina evaluado por HOMA-IR (Brasnyó et al., 2011). La evaluación del efecto de resveratrol con una dosis de 1000 mg/día por 45 días, redujo significativamente la glucemia en ayunas, HbA1c, insulina y HOMA-IR, además de aumentar significativamente HDL (Movahed et al., 2013). Las dosis utilizadas son muy diferentes. Por ejemplo, en un estudio con una de las dosis más altas utilizadas (3000 mg/día por 3 meses), no se encontraron diferencias significativas en marcadores glucémicos (Goh et al., 2014).

En contraste, uno de los estudios que evaluó el efecto del resveratrol sobre los marcadores de inflamación en 75 pacientes (con riesgo a enfermedad cardiovascular) usando una dosis de 8 mg/día por un semestre y 16 mg/día durante el segundo semestre, observaron aumento significativo para IL-10 (Tomé-Carneiro et al., 2012). Otro estudio llevado a cabo por Hadi y cols. evaluaron el efecto del resveratrol (800 mg/día durante 2 meses) en personas con DM2, sus resultados no observaron diferencias en IL-6 pero si disminución en glucosa y presión arterial (Khodabandehloo et al., 2018).

El resveratrol puede tener efectos benéficos en personas con DM2, pero los resultados son controversiales respecto a dosis, población, y tiempo de tratamiento. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la

suplementación con 900 mg/día de resveratrol en los marcadores glucémicos y de inflamación en personas con DM2 del estado de Querétaro.

## Metodología

### *Sujetos*

En el estudio participaron pacientes con DM2 diagnosticada de entre 30 y 70 años de edad, de ambos sexos, con o sin comorbilidades y con tratamiento hipoglucemiante oral (biguanidas, inhibidores de DPP4, sulfonilureas, inhibidores de SGLT2 e inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa). Se consideraron criterios de exclusión si los pacientes tenían diabetes tipo 1, mujeres embarazadas y madres lactantes, así como pacientes que recibieron insulina exógena como parte de su tratamiento. También se excluyeron a los participantes con sospecha de pérdida de función de células beta y si consumieron suplementos (vitaminas, minerales, antioxidantes) en los últimos 3 meses, pacientes con falla renal y con falla hepática significativa. Durante el estudio, se pidió al paciente que no consumiera ningún tipo de suplemento con antioxidantes, que no modificara su alimentación ni actividad física, y que no consumiera alcohol, en particular, vino tinto. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (48FCN2018).

### Diseño experimental

El presente estudio es un ensayo clínico, aleatorizado, triple ciego, controlado con placebo. Una vez firmado el consentimiento informado, los pacientes fueron asignados al azar a uno de dos grupos: 1. Grupo de intervención: 3 dosis de 300 mg de resveratrol (900 mg/día) 2. Grupo control: placebo. Debido a que el estudio es triple ciego, se presentan los datos como RVT01 y RVT02, sin saber aún cual es el grupo que recibió el resveratrol y cual el placebo. El estudio tuvo una duración de 3 meses. El placebo y el resveratrol se tomaron tres veces al día, entre 30 min antes y 2 h después de sus alimentos en conjunto con su tratamiento hipoglucemiante de acuerdo a las indicaciones de su médico. Se dio seguimiento mensual a los participantes para entregar el tratamiento, se registró el apego el cual se verificó con la recolección de los frascos y contabilizando las cápsulas sobrantes.

Al principio del estudio, se llevó a cabo una evaluación clínica para conocer los antecedentes heredofamiliares y los antecedentes personales patológicos del participante. Se realizó una exploración física y se midieron signos vitales como frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, presión arterial sistólica y diastólica. En la línea basal y a los 3 meses, a los participantes se les tomaron medidas antropométricas y de composición corporal y se tomó una muestra de sangre en ayunas para la medición de marcadores glucémicos y de inflamación.

## Metodología

En la evaluación antropométrica se midió la altura con un estadiómetro (SECA 700) y circunferencia de cintura y cadera con una cinta métrica (SECA 201). Para el peso y la composición corporal (contenido de grasa corporal) se usó una TANITA de 8 electrodos (modelo BC – 418). Las mediciones antropométricas se realizaron mediante las técnicas establecidas por la OMS (OMS, 1995). En sangre, se determinó la HbA1c por medio de inmuno-fluorescencia con el equipo i-chroma II – KontroLab y los puntos de corte para evaluar el control de la diabetes fueron: buen control <7%, regular control 7.1-8%, mal control >8% (IDF, 2017). Para determinar las concentraciones de insulina, CRP, IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-10 se utilizaron kits comerciales de ELISA de alta sensibilidad, los cuales fueron analizados por medio de un fotómetro de microplacas Multiskan Ascent (Thermo Electron Corporation, Ma, EUA). La concentración de glucosa, se midió con un equipo para química clínica (Spin 120, Spinreact). Con la determinación de glucosa e insulina se calculó el índice HOMA-IR para evaluar la resistencia a la insulina ( $\text{glucosa (mg/dL)} \times \text{insulina/} \mu\text{U/mL})/405$ ) (Matthews et al., 1985) y se consideró como punto de corte 2.29 (Radikova et al., 2006).

## Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de los datos. Se realizó una t- student para comparar los valores basales entre grupos. Para comparar los cambios de cada grupo, se aplicó una prueba t-student pareada y para la comparación del

cambio entre los grupos se analizó por medio de un ANOVA. Se consideró un intervalo de confianza del 95% y un valor de  $p < 0.05$ . Los análisis se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS versión 18.

## Resultados y discusión

De los 29 posibles participantes, 4 no aceptaron participar y 1 no cumplió los criterios de inclusión. Por lo tanto, 24 pacientes fueron aleatorizados, 11 para el grupo RVT01 y 13 para el grupo RVT02. De estos pacientes, terminaron solo 19, 10 en el grupo RVT01 y 9 en el grupo RVT02.

Se encontró que la prevalencia de sobrepeso y obesidad de los participantes fue alta (60% de sobrepeso y 40% de obesidad para el grupo RVT01, y 22.2% de sobrepeso y 66.6% de obesidad para RVT02). Tanto en el grupo RVT01 como RVT02 tuvieron un elevado porcentaje de grasa (90% y 88.9%, respectivamente). El 40% de los participantes del grupo RVT01 y el 44.4% del grupo RVT02 presentaron hipertensión estadio 1. Por otro lado, el 50% de los pacientes del grupo RVT01 tuvieron hipertrigliceridemia y 77% en el grupo RVT02. Además, se detectó una concentración baja de HDL en ambos grupos (100% grupo RVT01 y 88.9% en RVT02). El 20% de los participantes del grupo RVT01 y 44.4% de los participantes del grupo RVT02 tienen resistencia a la insulina. En el grupo RVT01, el 10% presentó un control regular de la diabetes y 40% presentó un mal control, mientras que para el grupo RVT02, el 11.11% tuvo un regular control y 11.11% mal control.

Ambos grupos comenzaron con características similares al inicio del estudio. En cuanto al efecto del resveratrol sobre los marcadores glucémicos, hubo una disminución significativa en insulina en el grupo RVT02 (-5.80 uU/mL, IC 95%: -12.79, 1.20 uU/mL), comparado con el grupo RVT01 (1.38 uU/mL, IC 95%: -0.38, 3.14 uU/mL) ( $p < 0.05$ ). De igual forma, la resistencia a la insulina (HOMA-IR) disminuyó significativamente en el grupo RVT02 (-1.98, IC 95%: -4.38, 0.42) en comparación con el grupo RVT01 (0.92, IC 95%: -0.43, 2.27) ( $p < 0.05$ ). Suponiendo que RVT02 es el grupo recibiendo el resveratrol, los resultados son comparables con los encontrados en estudios con una dosis similar (1000 mg/día). Por ejemplo, Movahed y cols. (2013), encontraron en pacientes con DM2 una disminución en la concentración de insulina y HOMA-IR, además de glucosa y HbA1c. En un estudio reciente, 71 pacientes con DM2 tomaron 1000 mg/día de resveratrol por 2 meses y al final, la concentración de insulina disminuyó significativamente, pero no HOMA-IR, como lo encontrado en el presente estudio (Abdollahi et al., 2019).

De los marcadores de inflamación, se observó únicamente un cambio en la concentración de IL-10 en el grupo RVT02 (1.41 pg/mL; IC 95%: 0.54, 2.28 pg/mL), pero no hubo diferencias significativas con el grupo RVT01 (-0.07 pg/mL; IC 95%: -1.45, 1.31 pg/mL) ( $p > 0.05$ ). En contraste, Carneiro y cols. (2012) encontraron que el grupo que recibió el resveratrol aumentó significativamente su concentración de IL-10 comparado con el grupo control.

## Conclusiones

Suponiendo que los resultados observados en el grupo RVT02 se deben al resveratrol, es posible que su consumo tenga un efecto benéfico en la concentración de insulina y resistencia a la insulina en pacientes con diabetes.

## Literatura citada

- Abdollahi, S., Salehi-Abargouei, A., Toupchian, O., Sheikha, M. H., Fallahzadeh, H., Rahmani, M., Tabatabaie, M., & Mozaffari-Khosravi, H. (2019). The Effect of Resveratrol Supplementation on Cardio-Metabolic Risk Factors in Patients with Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind Controlled Trial. *Phytotherapy Research*, 33(12), 3153–3162. <https://doi.org/10.1002/ptr.64>
- Asgary, S., Karimi, R., Momtaz, S., Naseri, R., & Farzaei, M. H. (2019). Effect of resveratrol on metabolic syndrome components: A systematic review and meta-analysis. In *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* (Vol. 20, Issue 2, pp. 173–186). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09494-z>
- Brasnyó, P., Molnár, G. A., Mohás, M., Markó, L., Laczy, B., Cseh, J., Mikolás, E., Szijártó, I. A., Mérei, Á., Halmi, R., Mészáros, L. G., Sümegi, B., & Wittmann, I. (2011). Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *British Journal of Nutrition*, 106(3), 383–389. <https://doi.org/10.1017/S0007114511000316>
- Goh, K. P., Lee, H. Y., Lau, D. P., Supaat, W., Chan, Y. H., & Koh, A. F. Y. (2014). Effects of resveratrol in patients with type 2 diabetes mellitus on skeletal muscle SIRT1 expression and energy expenditure. *International Jour-*

- nal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 24(1), 2–13. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.2013-0045>
- González-Clemente, J. M. (2014). New drugs for type 2 diabetes mellitus: Friends or foes. Reflections on new guidelines to standardize treatment of type 2 diabetes mellitus. In *Avances en Diabetologia* (Vol. 30, Issue 4, pp. 91–94). Elsevier Doyma. <https://doi.org/10.1016/j.avdiab.2014.06.004>
- IDF. (2017). Manejo de la diabetes tipo 2 en atención primaria. International Diabetes Federation. <https://www.idf.org/our-activities/care-prevention/type-2-diabetes.html>
- International Diabetes Federation. (2017). Diabetes Atlas. <http://fmidiabetes.org/wp-content/uploads/2018/03/IDF-2017.pdf>
- Khodabandehloo, H., Seyyedebrahimi, S. S., Esfahani, E. N., Razi, F., & Meshkani, R. (2018). Resveratrol supplementation decreases blood glucose without changing the circulating CD14 + CD16 + monocytes and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition Research*, 54, 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.03.015>
- Koushki, M., Dashatan, N. A., & Meshkani, R. (2018). Effect of Resveratrol Supplementation on Inflammatory Markers: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. In *Clinical Therapeutics* (Vol. 40, Issue 7, pp. 1180-1192.e5). Excerpta Medica Inc. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2018.05.015>
- Masse, F. (2017). Desinformación, principal enemigo de la lucha contra la diabetes - Instituto Mexicano para la Competitividad A.C. IMCO. <https://imco.org.mx/temas/desinformacion-principal-enemigo-la-lucha-la-diabetes/>
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412–419. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
- Movahed, A., Nabipour, I., Lieben Louis, X., Thandapilly, S. J., Yu, L., Kalantarhormozi, M., Rekabpour, S. J., & Netticadan, T. (2013). Antihyperglycemic effects of short term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 11. <https://doi.org/10.1155/2013/851267>
- OMS. (1995). Parte 3: Guías para la formación e instrucciones prácticas 3-4-1 Sección 4: Guía para las mediciones físicas (Step 2) Vigilancia STEPS de la OMS.
- Radikova, Z., Koska, J., Huckova, M., Ksinantova, L., Imrich, R., Vidas, M., Trnovec, T., Langer, P., Sebockova, E., & Klimes, I. (2006). Insulin sensitivity indices: A proposal of cut-off points for simple identification of insulin-resistant subjects. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 114(5), 249–256. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924233>
- Shamah-Levy T, V.-O. E., & Santaella-Castell JA, R.-D. J. (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública. <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/informes.php>
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., García-Almagro, F. J., Ruiz-Ros, J. A., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2012). One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*, 110(3), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.03.030>

# Desarrollo y validación de materiales educativos multimedia enfocados en mejorar la alimentación de familias mexicanas

*Vázquez Vargas, E. V.*

*Caamaño Pérez, M. C.*

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana

Facultad de Ciencias Naturales, UAQ



# Introducción

El sobrepeso y la obesidad es un trastorno que se presenta con mayor prevalencia en países con medianos y bajos ingresos, principalmente en entornos urbanos, cuyas causas yacen en distintos factores ambientales, sociales, culturales y personales (OMS, 2020). De acuerdo con un informe elaborado por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) México ocupa el tercer lugar, seguido de Chile y Estados Unidos, sin embargo, en el porcentaje de mujeres México ocupa el primer lugar (OCDE, 2019). En México de acuerdo a con datos reportados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2018, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad fue de 35.6 % y para la población infantil de 5 a 11 años la prevalencia fue de 35.6% en el 2018 (ENSANUT, 2018). México mostró una mayor prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en localidades urbanas fue de 37.9 % en comparación con el 29.7% de la prevalencia reportada con las localidades rurales en el 2018 (ENSANUT, 2018). El riesgo de padecer enfermedades no transmisibles crece con el aumento de la acumulación de grasa. Actualmente la principal causa de muerte en adultos en México es la enfermedad del corazón, seguida de diabetes mellitus y en tercer lugar los tumores malignos (INEGI, 2018), estas enfermedades tienen una importante asociación con el sobrepeso y la obesidad.

Para reducir la prevalencia de obesidad, organizaciones internacionales y nacionales

han puesto en marcha, programas y estrategias para contrarrestar estas cifras. Instituciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Instituto Mexicano de Seguro Social (IMSS), el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), proponen la adopción de estilos saludables de vida, con enfoques en la adopción de hábitos que incluyan la adopción de actividad física y el consumo de alimentos saludables, como objetivos principales para prevenir y tratar el sobrepeso y la obesidad (OMS, 2020; OMS, 2014; OMS, 2016; Secretaría de Salud, 2012; SEGOB, 2014; Secretaría de Salud, 2010; Secretaría de Salud, 2013)

Los hábitos son costumbres que se adquieren por la repetición de acciones consecutivas y rutinarias, también se definen como el conjunto de costumbres que una persona tiene para alimentarse, se adquieren y aprenden por medio de la convivencia con las personas en especial con su núcleo familiar y del ambiente en donde se desarrollen (Blandón, 1983). Para lograr la adopción de los hábitos alimentarios saludables, es necesario lograr un cambio de los hábitos alimentarios no saludables a través de la educación; la educación es un proceso que no solo proporciona información y herramientas, también fomenta la motivación, el crecimiento y el cambio (Contento, 2016).

Una de las teorías más conocidas y utilizadas para el cambio de comportamiento en el ámbito de salud es la teoría cognitiva conductual propuesta por Albert Bandura como una forma de comprender el proceso de aprendizaje desde un contexto social. De acuerdo a esta teoría el comportamiento humano es el

producto de la interacción dinámica y recíproca entre tres factores; los personales, los de comportamiento /conducta y los del ambiente (SCHUNK, 2012; Alfred L. McAlister, 2008; Bandura, Social Cognitive theory : An agentic perspective, 1999) y es por medio de las percepciones del medio ambiente y de las capacidades intelectuales y psicológica de cada persona que el comportamiento puede cambiar a través de nuevas experiencias de aprendizaje (Alfred L. McAlister, 2008). El aprendizaje es una actividad que procesa información en la que se transmiten nuevos modelos para reproducir nuevas conductas. El aprendizaje por observación permite desarrollar conocimientos, habilidades y herramientas por medio de la conducta observada estudios han demostrado que los modelos que más frecuentemente se imitan son aquellos en los que lo que se observan modelos o situaciones similares a las de los observadores, los niños imitan con mayor frecuencia a otros niños con la misma edad o mayores (Schunk, 1987). En muchas personas el aprendizaje ocurre inadvertidamente, observando el comportamiento y las consecuencias actuales de otras personas. Una gran cantidad de información sobre los valores, estilos de pensamiento, patrones de conducta y oportunidades y restricciones socioculturales, son aprendidas mediante modelos de estilos de comportamiento simbólicos, retratados a través de los medios electrónicos masivos. En esta forma de aprendizaje, las personas realizan una acción y notan el efecto positivo o negativo y aprenden que tipo de acciones son adecuadas y cuales no lo son (Bandura, Social Cognitive theory : An agentic perspective, 1999).

Los materiales multimedia se definen como una forma de presentar formas verbales (texto o hablado) y formas pictóricas (impresiones e imágenes, ilustraciones, fotos, animaciones o videos) para presentar información (Mas et al., 2003)(Mayer, 2014). Mayer en el año 2001 basado en numerosas investigaciones propuso el principio multimedia el cual indica que las personas aprenden mejor de imágenes y palabras que solo de palabras, debido a que esta combinación facilita la comprensión profunda, considerada el objeto final del aprendizaje, ya que permite predecir, analizar, aplicar o transferir en nuevo conocimiento (Butcher, 2014).

## Metodología

### *Primera etapa: Diseño y desarrollo de material multimedia*

El diseño tomó en consideración las características de la población a la que se dirige el material que son familias con hijos estudiando en escuelas públicas de nivel socioeconómico medio-bajo (C-, D+ y D); quienes tienen más probabilidad de haber tenido experiencias de inseguridad alimentaria,

El diseño también consideró información otorgada mediante grupos focales realizados en diferentes estados de la República Mexicana (Guerrero, Querétaro, Veracruz y Morelia) en donde una de las barreras principales para tener un estilo de vida saludable o alimentación saludable fueron la falta de conocimiento e

ingreso económico. Como base teórica se utilizó el aprendizaje observacional propuesto por la teoría cognitiva conductual y como medio de presentación el material multimedia. Basados en estas consideraciones y en la cultura, sociedad, localidades y lenguaje mexicano se crearon diseños instruccionales en los cuales se plasmaron los objetivos e ideas escritas de cada material. Posteriormente basados en los diseños instruccionales, se plasmaron pictóricamente secuencias de dibujos que simulan los escenarios, objetos, personajes claves/principales y los diálogos de las animaciones en un formato llamado story board. Las animaciones se crearon y plasmaron basadas en los dos formatos anteriores en una aplicación web llamada VYOND.

### *Segunda etapa: Validación de contenido*

Se realizó un estudio de validación de contenido por 5 expertos en nutrición, educación y psicología, se utilizó el instrumento para la evaluación de objetos de aprendizaje (LORI-ESP), con el cual se identificarán los cambios necesarios para lograr que los materiales multimedia cumplieran con la calidad de contenido, la adecuación de los contenidos de aprendizaje, la motivación, el diseño y la presentación.

## Resultados y discusión

Se obtuvieron 23 videos con una duración promedio de 1 minuto con 84 segundos, divididos en 5 módulos (Cuadro 1), el primer módulo “Un buen hábito cambia la vida” se compone de 6 videos animados, tiene como objetivo comprender que una dieta restrictiva de manera temporal no ayuda a lograr un cambio a largo plazo, así como comprender el proceso de formación de un hábito y el proceso para cambiar un mal hábito, reconocer que no hay que cambiar la dieta drásticamente para mejorar los hábitos ya que el cambio de hábitos se logra haciendo pequeños cambios y al mismo tiempo que se pueden seguir disfrutando de la comida mejorando la alimentación y el estilo de vida de manera permanente.

**Cuadro1. Listado de videos producidos**

Módulo	código	Video	Duración	Link Youtube
<b>1 .Un buen hábito cambia la vida.</b>	VM1_1	¿Por qué las dietas restrictivas no sirven ?	2:23	<a href="https://youtu.be/5A2Dr8Fv6e">https://youtu.be/5A2Dr8Fv6e</a>
	VM1_2	¿Cómo se forman los hábitos?	2:07	<a href="https://youtu.be/-lv19jKQpws">https://youtu.be/-lv19jKQpws</a>
	VM1_4	¿Qué es un estilo de vida saludable?	2:09	<a href="https://youtu.be/B8G8msiMVG0">https://youtu.be/B8G8msiMVG0</a>
	VM1_5	Pequeños cambios , grandes diferencias (Chema)	1:10	<a href="https://youtu.be/NM0gWwJOvXs">https://youtu.be/NM0gWwJOvXs</a>
	VM1_6	Pequeños cambios , grandes diferencias (Chucho)	1:29	<a href="https://youtu.be/zBxb7Zce9D">https://youtu.be/zBxb7Zce9D</a>
	VM1_7	Pequeños cambios , grandes diferencias (Mary)	1:12	<a href="https://youtu.be/watlUh4XoEk">https://youtu.be/watlUh4XoEk</a>
	<b>2 .Alimentación para vivir bien.</b>	VM2_1	Alimentación consiente	2:11
VM2_2		¿Qué tienen en común el sol y los alimentos?	2:54	<a href="https://youtu.be/yAHHa4iQEes">https://youtu.be/yAHHa4iQEes</a>
VM2_3		¿Qué contienen las frutas y las verduras?	1:14	<a href="https://youtu.be/3xrH2Gfb-S0">https://youtu.be/3xrH2Gfb-S0</a>
VM2_4		¿Qué son los cereales?	1:41	<a href="https://youtu.be/hCPLPhZ1n1g">https://youtu.be/hCPLPhZ1n1g</a>
VM2_5		¿Qué tienen en común los AOA y las leguminosas?	1:57	<a href="https://youtu.be/L3PIkJfUNvc">https://youtu.be/L3PIkJfUNvc</a>
VM2_6		No todas las grasas son iguales	1:58	<a href="https://youtu.be/m4mfpqvJnTw">https://youtu.be/m4mfpqvJnTw</a>
VM2_7		Todo cuenta	2:04	<a href="https://youtu.be/L1Pxf2saeH4">https://youtu.be/L1Pxf2saeH4</a>
VM2_8		Saciedad incómoda	2:16	<a href="https://youtu.be/druUm1x7G3w">https://youtu.be/druUm1x7G3w</a>
<b>3 .Hidratación saludable.</b>	VM3_1	Importancia del agua en nuestro cuerpo	1:51	<a href="https://youtu.be/vQpUqK0TI">https://youtu.be/vQpUqK0TI</a>
	VM3_2	¿Cuánta agua y por qué?	1:37	<a href="https://youtu.be/b7loXEeScvg">https://youtu.be/b7loXEeScvg</a>
	VM3_3	Y tú ¿Estás bien o mal hidratado?	1:16	<a href="https://youtu.be/HIEeyvRfg2U">https://youtu.be/HIEeyvRfg2U</a>
<b>4 . Alimentación durante el embarazo y la lactancia.</b>	VM4_1	Lo que debes saber antes del parto	2:12	<a href="https://youtu.be/_UDJQFV9fw">https://youtu.be/_UDJQFV9fw</a>
	VM4_2	Actividad física y embarazo	2:32	<a href="https://youtu.be/p-j-mrvnq-os">https://youtu.be/p-j-mrvnq-os</a>
<b>5. Alimentación de los niños.</b>	VM5_1	Un niño bien alimentado vs un niño mal alimentado	2:19	<a href="https://youtu.be/uDwiOzu0zql">https://youtu.be/uDwiOzu0zql</a>
	VM5_2	¿Por qué debemos comer?	1:55	<a href="https://youtu.be/p7v61hWbGs0">https://youtu.be/p7v61hWbGs0</a>
	VM5_3	Ayúdame con los grupos de alimentos	3:24	<a href="https://youtu.be/m_MnCmNKAzv">https://youtu.be/m_MnCmNKAzv</a>
	VM5_4	¿Qué alimentos debo comer menos?	2:58	<a href="https://youtu.be/usywFVdkJHq">https://youtu.be/usywFVdkJHq</a>

El segundo módulo “Alimentación para vivir bien” se compone de 8 videos animados, tiene como objetivo comprender significado de ingesta y gasto calórico o energético de todo lo que se consume enfatizando que todos los alimentos proporcionan energía, conocer el significado de la saciedad fisiológicamente y su relación con los alimentos híper calóricos, así como aprender a identificar las características de una alimentación balanceada y saludable, conocer e identificar los grupos de alimentos, sus funciones y beneficios en el cuerpo, com-

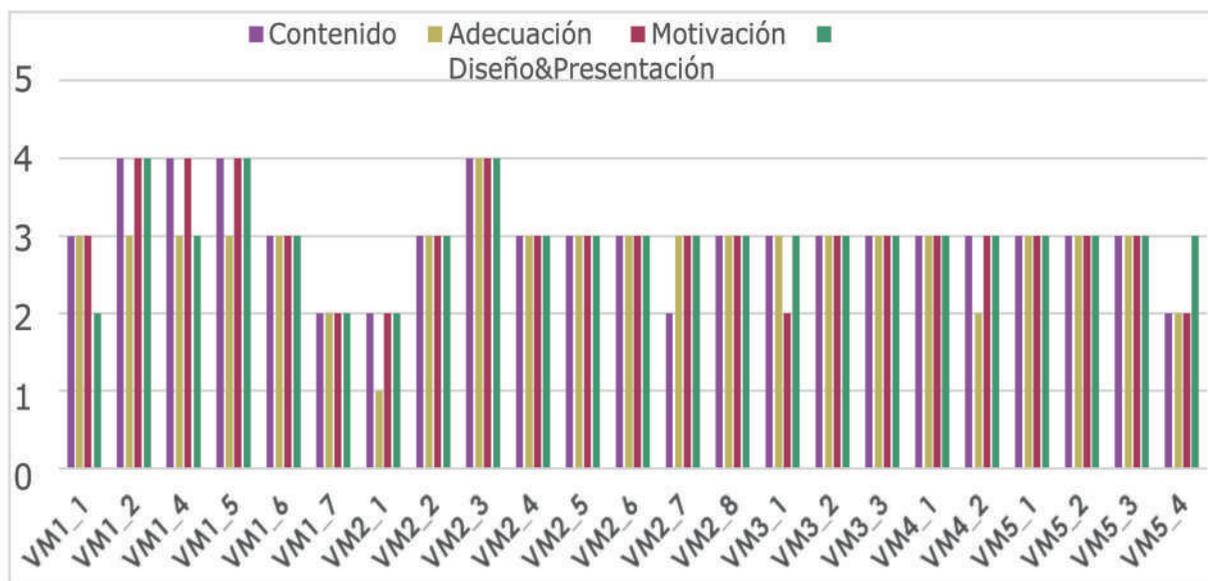
prender la importancia y funciones las grasas, así como reconocer las diferencias entre grasa vegetal y animal. El tercer módulo “Hidratación saludable” se compone de 3 videos animados, tiene como objetivo conocer las funciones que tiene el agua en nuestro cuerpo, su importancia de los principales síntomas de deshidratación y las recomendaciones de consumo. El cuarto módulo “Alimentación durante el embarazo y la lactancia” en se compone de 2 videos animados, tienen como objetivo incentivar la alimentación por medio de la lactancia

materna y conocer los beneficios de realizar actividad física, así como los cuidados al realizarla. El quinto módulo “Alimentación de los niños” se compone de 4 videos, 3 de ellos diseñados específicamente para los niños, estos videos invitan a reflexionar a papás y a hijos sobre los hábitos de alimentación y de actividad física y a conocer los beneficios de la alimentación en el cuerpo y explicar porque los alimentos ricos en azúcar y en grasa no son benéficos para la salud.

Los resultados de la validación de contenido mostraron que el 67% (16) de los videos presentaron calidad de contenido, el 64% (15) presento adecuación de contenido, el 65% (15) presentó motivación y el 67% (16) presentó diseño y presentación. En la figura 1 se presentan las respuestas obtenidas para las cuatro categorías evaluadas por cada video, se puede observar que el video que mayor respuesta positiva

obtuvo fue el video titulado “¿Qué contienen las frutas y las verduras?” y el video peor calificado fue el titulado “Alimentación consciente”, la categoría que menos resultados positivos obtuvo fue la de adecuación de contenido, los principales comentarios fueron que el material no cumplía por completo con el objetivo planteado, el uso de generalizaciones con varios términos, para la categoría de motivación, el principal comentario fue la entonación y la claridad de las voces utilizadas, lo cual ya había sido considerado como una limitante, ya que las voces utilizadas no son profesionales, pertenecen a integrantes del equipo de trabajo, así como de familiares y amigos de estos integrantes, en cuanto a la categoría de contenido, se identificaron frases que inducían sesgos u omisiones que podían confundir o mal interpretar la información, la categoría de diseño y presentación fue la que menos comentarios tuvo.

**Figura 1. Respuestas obtenidas de la validación de contenido por video.**



# Conclusiones

El presente trabajo contribuyó a identificar los pasos necesarios para el diseño de materiales multimedia para la educación encaminada a cambio de hábitos en familias mexicanas. Resulta muy importante considerar una evaluación de contenido y cumplir con las recomendaciones identificadas. Es necesario que el trabajo desarrollado sea evaluado a nivel cognitivo por la población objetivo en una etapa posterior.

## Literatura citada

- Alfred L. McAlister, C. L. (2008). How individuals, environments and health behavior interact social cognitive theory. En B. K. Karen Glanz, *Health behavior and health education theory research and practice* (págs. 169-188). San Francisco : JOSSEY-BASS.
- Bandura, A. (1999). Social Cognitive theory : An agentic perspective. *Asian Journal of Social Psychology*, 21- 41. Bandura, A. (2004). Health promotion by social cognitive means . *Health education & behavior* , 143-164.
- Blandón, P. A. (1983). *Fundamentos de nutrición*. San José , Costa Rica : Editorial Universidad Estatal a Distancia . Obtenido de <https://books.google.com.mx/books?id=-Canubde1Z6kC&pg=PA104&dq=hbitos+alimentarios&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiPsYe59afpAhUJWqwKHVwXB-cYQ6AEIKDAA#v=onepage&q=hbitos%20alimentarios&f=false>
- Butcher, K. R. (2014). The multimedia principle. In *The Cambridge Handbook of Multimedia Learning, Second Edition*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139547369.010>
- Contento, I. R. (2016). *Educación Nutricional*. USA: Jones & Bartlett Learning.
- ENSANUT. (2018). *Informe de resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*. Presentación de resultados . Obtenido de <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/informes.php>
- INEGI. (31 de 10 de 2018). *Instituto Nacional de estadística y geografía*. Obtenido de <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodem/DEFUNCIONES2017.pdf>
- INEGI. (2018). *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*. Obtenido de Encuesta nacional sobre disponibilidad y uso de tecnologías de la información en los hogares: [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2019/OtrTemEcon/ENDUTIH\\_2018.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2019/OtrTemEcon/ENDUTIH_2018.pdf)
- Jing Zhao, B. F. (2016). Can mobile phone apps influence people's health behavior change? An evidence review. *Journal of Medical Internet Research*, 1-12. doi:10.2196/jmir.5692

- Mas, F. G., Plass, J., Kane, W. M., & Papenfuss, R. L. (2003). Health education and multimedia learning: connecting theory and practice (Part 2). *Health Promotion Practice, 4*(4), 464–469. <https://doi.org/10.1177/1524839903255411>
- Mayer, R. E. (2014). Introduction to multimedia learning. *The Cambridge Handbook of Multimedia Learning, Second Edition, 1–24*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139547369.002>
- OCDE. (2019). *Salud en un vistazo: Indicadores de la OCDE*. París: Publicaciones de la OCDE. Obtenido de [https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2019\\_4dd50c09-en](https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2019_4dd50c09-en)
- OMS. (07 de 2014). *Comisión para acabar con la obesidad infantil*. Obtenido de <https://www.who.int/end-childhood-obesity/about/es/>
- OMS. (2016). *Informe de la comisión para acabar con la obesidad infantil*. Obtenido de <https://www.who.int/end-childhood-obesity/publications/echo-report/es/>
- OMS. (01 de 04 de 2020). *Sobrepeso y obesidad*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Schunk, D. H. (1987). Peer Models and Children's Behavioral Change. *Review of Educational Research, 57*(2), 149– 174. <https://doi.org/10.3102/00346543057002149>
- SCHUNK, D. H. (2012). *Teoría del aprendizaje*. México : PEARSON EDUCACION.
- Secretaría de salud . (11 de Febrero de 2010). Acuerdo por el que se crea el consejo nacional para la prevención y control de las enfermedades crónicas no transmisibles . *Diario Oficial* , págs. 15- 18.
- Secretaría de salud . (Septiembre de 2013). *Gobierno de México* . Obtenido de Estrategia nacional para la prevención y el control del sobrepeso, la obesidad y la diabetes.: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/276108/estrategia\\_sobrepeso\\_diabetes\\_obesidad.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/276108/estrategia_sobrepeso_diabetes_obesidad.pdf)
- Secretaría de Salud. (2012). *Activación física* . Obtenido de [http://activate.gob.mx/Documentos/ACUERDO%20NACIONAL%20POR%20LA%20SALUD%20ALIMENTARIA .pdf](http://activate.gob.mx/Documentos/ACUERDO%20NACIONAL%20POR%20LA%20SALUD%20ALIMENTARIA.pdf)
- SEGOB. (16 de 05 de 2014). *Diario oficial de la federación*. Obtenido de Acuerdo mediante el cual se establecen los lineamientos generales para el expendio y distribución de alimentos y bebidas preparados y procesados en las escuelas del Sistema Educativo Nacional.: [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5344984&fecha=16/05/2014](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5344984&fecha=16/05/2014)

# Análisis de susceptibilidad a inundaciones asociado a los cambios de uso de suelo en la microcuenca San José el Alto, Querétaro

Villanueva Molina P. G.

Hernández Guerrero, J. A.

Maestría en Gestión Integrada de Cuencas.

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro.



# Introducción

La demanda de servicios e infraestructura en las ciudades está relacionada directamente con el crecimiento demográfico de éstas, al mismo tiempo que los cambios de uso de suelo, la contaminación y la ocupación de zonas susceptibles a riesgos por (Pérez, Gil y Olcina, 2015).

Lo anterior se acentúa en la periferia de las ciudades con acelerado crecimiento, pues los intensos cambios de uso de suelo repercuten en la funcionalidad hídrica de la cuenca, tales como regulación, captación o depósito, es por ello que se esta problemática se debe analizar desde la gestión de cuencas, pues aporta hacia la gestión de conflictos entre el ser humano y el entorno que habitan (Duorojeanni y Jouravlev, 1999). De acuerdo con Peña (2017: 3-4), la zona funcional alta de la cuenca debe regular el volumen y escurrimiento, la zona media asegurar el almacenamiento hídrico para que la zona baja reciba escurrimientos con menor velocidad y erosividad.

La ciudad de Querétaro ejemplifica lo señalado anteriormente, donde el crecimiento del espacio físico construido ha propiciado alteraciones en las funciones de las cuencas. En el 2000 se tenía 641,386 habitantes (INEGI, 2015a), mientras que para el 2020 se presentó una población de 1,049,777 (INEGI, 2020) especialmente las que se encuentran en la periferia, del pues se presentó un incremento poblacional del 64%, mientras que su mancha urbana de ha crecido exponencialmente, pues en 1980 se tenían 800 hectáreas y para el 2009 se contaban ya con 11,000 Ha (Tinsa, 2009).

De acuerdo con el IMPLAN (2018a), el crecimiento de la mancha urbana se extiende principalmente hacia el norte de la ciudad. En esta zona destaca la microcuenca San José el Alto, pues en los últimos años se han presentado diversos cambios de uso de suelo y eventos de inundación, estos últimos especialmente en 2014 y 2017, los cuales presentaron daños a la infraestructura vial, hospitales y diversas colonias como El Salitre, Cuitláhuac y Raquet Club. El evento de 2017 fue más catastrófico, pues además de lo anterior, también se tuvieron pérdidas humanas y dos socavones. Debido a que estos eventos se han presentado en la misma microcuenca, se debe trabajar bajo el enfoque de cuenca (Zimmermann & Bracalenti, 2014).

En el presente trabajo se analizará la susceptibilidad a inundaciones asociado a los cambios de uso de suelo en la microcuenca San José el Alto, Querétaro, con lo cual las autoridades competentes podrán desarrollar estrategias de mitigación de inundaciones y controlar el crecimiento de la mancha urbana que puedan modificar aún más la dinámica hídrica de la microcuenca.

## Metodología

En la región hidrológico-administrativa VIII Lerma-Santiago-Pacífico y la cuenca Lerma-Chapala, se encuentra la microcuenca San José el Alto al norte de la ciudad de Querétaro (Figura 1) con una extensión territorial de 58.10 km<sup>2</sup>, altitud entre 1,760 y 2,710 m.s.n.m., la zona urbana abarca un área de 4.37 km<sup>2</sup>, en la cual residen 39,383 habitantes. Además, en la microcuenca

se encuentra el 64.21% de Peña Colorada, área que comenzó su proceso para ser decretada como Área Natural Protegida en el año 2014 (CONANP, 2014).

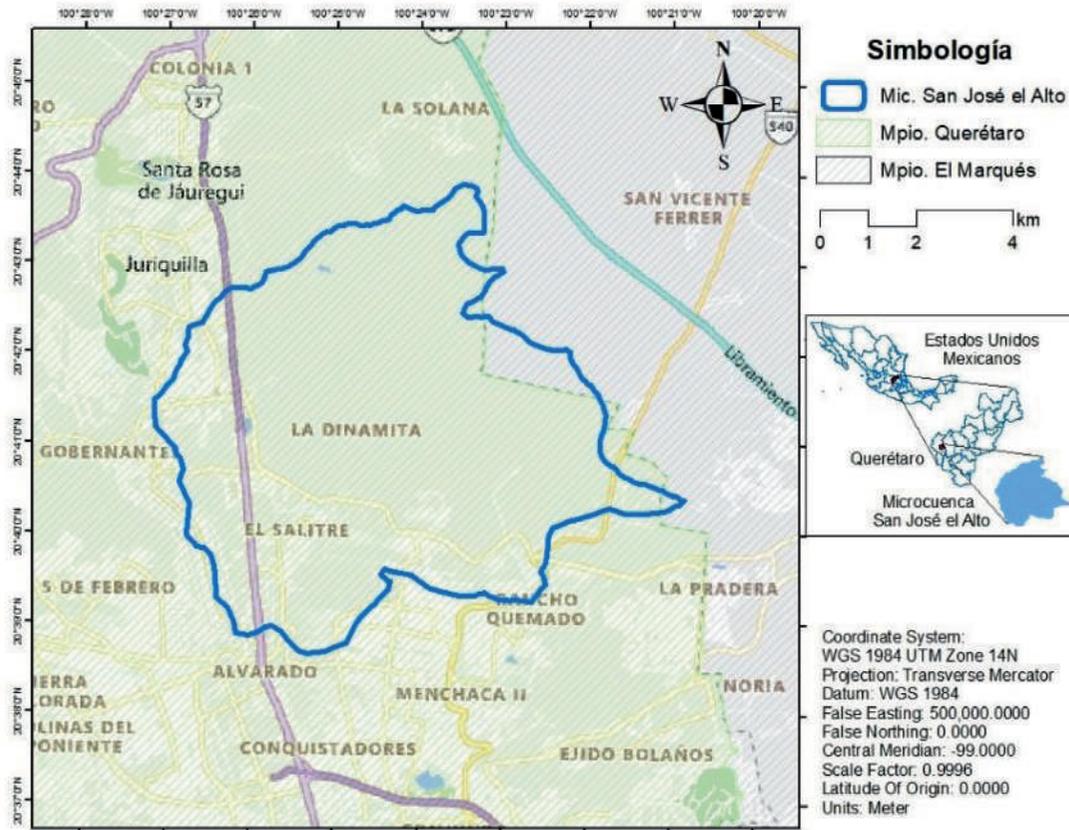


Figura 1 Ubicación de la microcuenca San José el Alto, Querétaro.

El presente trabajo pretende establecer la relación entre las zonas susceptibles a inundación y los cambios de uso de suelo en la microcuenca San José el Alto, esto mediante tres etapas:

- I. Identificación de zonas susceptibles a inundación. Se elaboró un mapa de susceptibilidad a partir de análisis multicriterio, utilizando el trabajo de Hernández y Vieyra (2010). La información base utilizada corresponde a utilizó la carta topográfica con clave F14C65

(INEGI, 2015b), edafología (INEGI, 2007), uso de suelo y vegetación, pendiente (INEGI, 2013) y localización de cuerpos de agua (INEGI, 2007). Para el análisis multicriterio se emplearon juicios de expertos, tal como Chávez, Binnquist y Salas (2017) para establecer la importancia de cada criterio en cuanto a la formación de inundaciones.

- II. Identificación de cambios de uso de suelo. Para el mapa de uso de suelo actual e ideal se analizaron

imágenes satelitales del estado actual de la microcuenca y se digitalizaron los Planes Parciales de Desarrollo de diversas delegaciones (Epigmenio Gonzáles, Santa Rosa Jáuregui y Félix Osos Sotomayor) de acuerdo al método de Cortés, Cortés y Rodríguez (2015), el cual consiste en emplear un Sistema de Información Geográfica para trazar manualmente los polígonos de uso de suelo georreferenciando la información de los planes parciales de desarrollo.

III. Análisis de la relación entre los cambios de uso de suelo y la formación de inundaciones. Final-

mente, se comparó la cartografía obtenida en la segunda etapa para identificar los cambios de uso de suelo que han intervenido en la formación de zonas susceptibles a inundación.

## Resultados y Discusión

Las zonas susceptibles a inundación en la microcuenca (Figura 2) se encuentran en la zona baja, lo que además coincide con las colonias El Salitre y Jurica Pinar, las cuales presentaron inundaciones entre 2014 y 2017.

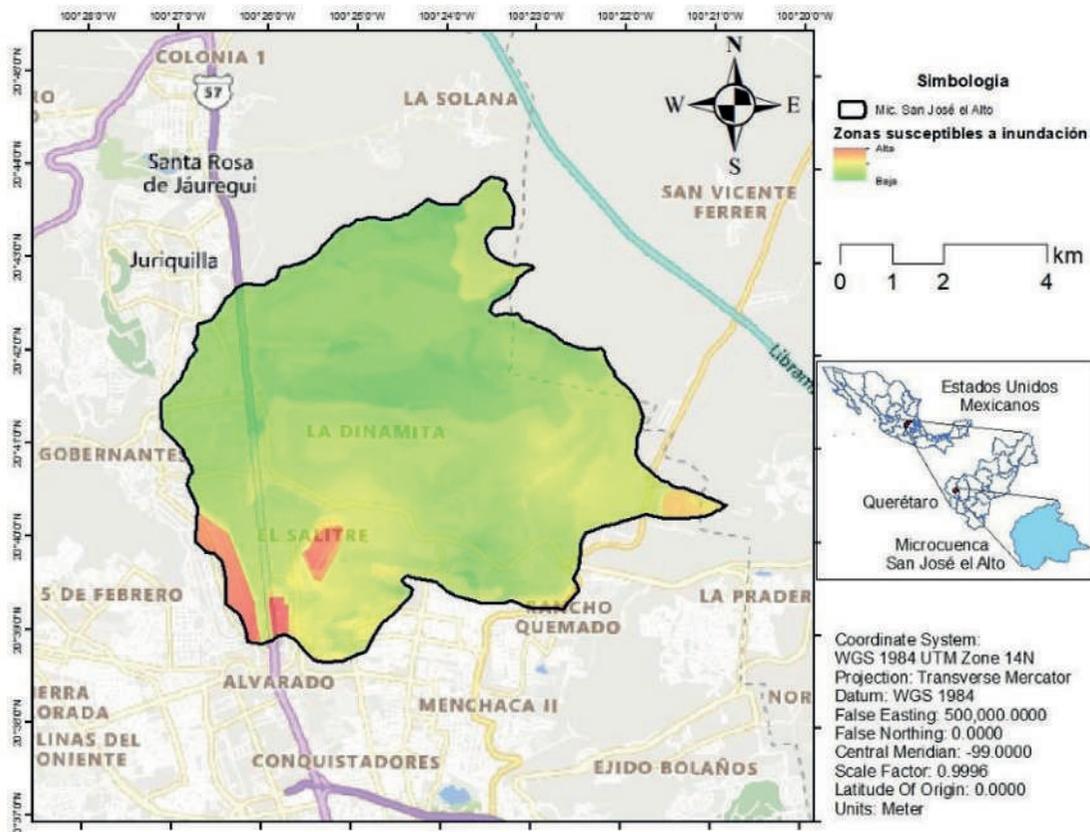


Figura 2 Zonas susceptibles a inundación. Microcuenca San José el Alto, Querétaro.

Fuente: Elaboración empleando el método de Buzai (2015).

Si bien, el crecimiento urbano que está teniendo la microcuenca San José el Alto es mayormente acorde al proyectado en los planes parciales de desarrollo (municipio de Querétaro 2018a, 2018b y 2018c), hay una diferencia en cuanto a asentamientos irregulares y algunos de ellos han propiciado la modificación de la dinámica hídrica de la zona, el fraccionamiento Altozano es un ejemplo de ello, pues en el área de desarrollo se contemplaba un cuerpo de agua donde actualmente hay infraestructura urbana. Otros asentamientos como El Obraje no están contempla-

dos dentro de los planes parciales de desarrollo, por lo que cuenca arriba se está impermeabilizando el suelo y con ello aumentan los escurrimientos hacia la parte baja de la microcuenca, donde los asentamientos irregulares continúan, tal como el caso que se sitúa en el área aledaña al bordo El Salitre, pues los planes de desarrollo contemplan esta zona como preservación ecológica, esto como protección o capacidad adicional de regulación al bordo. Cabe mencionar que justo en estas zonas es donde se han presentado eventos catastróficos de inundaciones en años anteriores.

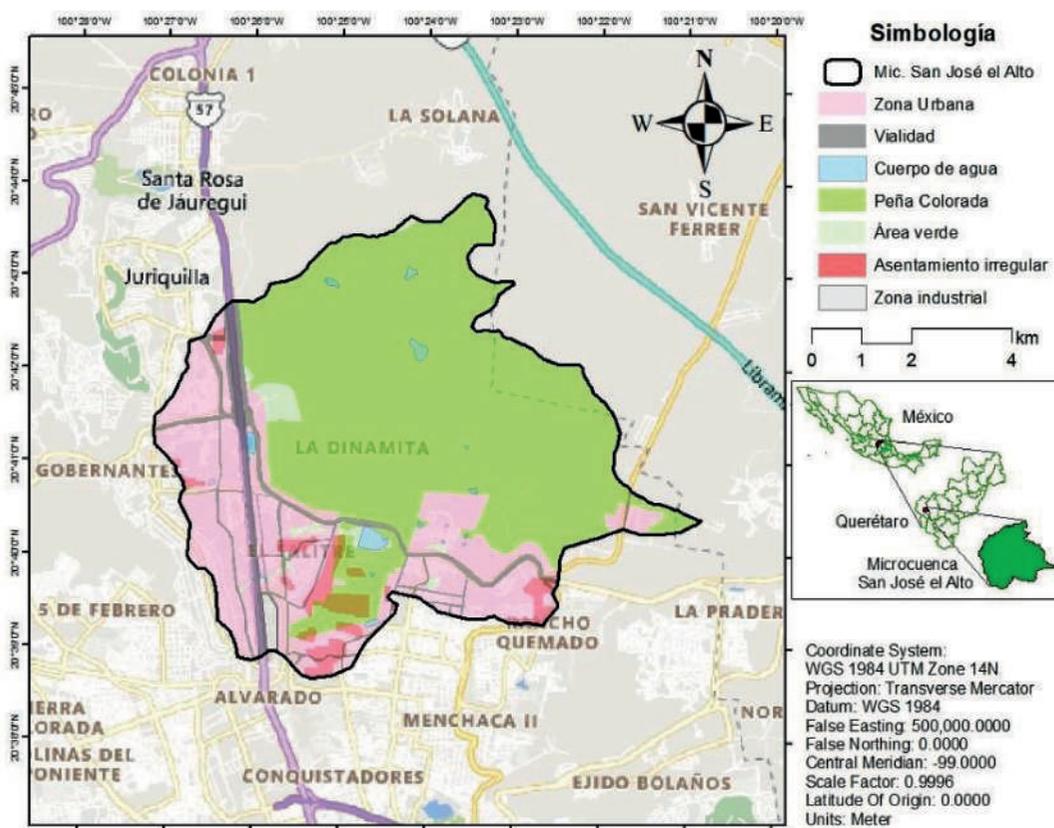


Figura 3. Planes parciales de desarrollo urbano y asentamientos irregulares de la microcuenca San José el Alto. Fuente: Elaboración con datos del municipio de Querétaro (2018a, 2018b y 2018c) eIMPLAN (2018).

## Conclusiones

Es necesario controlar el crecimiento urbano en la microcuenca San José el Alto y que se detenga el aumento de asentamientos en zonas susceptibles a inundaciones, además de implementar alguna estrategia de mitigación de riesgo de inundaciones.

Las desapariciones de cuerpos de agua derivados del crecimiento urbano han modificado significativamente la dinámica hídrica de la microcuenca, esto debido a la disminución de capacidad de retención en la microcuenca, lo que podría considerarse para desarrollar la estrategia de mitigación de inundaciones, con ello se recuperaría parte de los servicios ambientales que puede proporcionar la microcuenca.

La estrategia de adaptación, también deberá contemplar brindar información a los habitantes de la microcuenca sobre la mitigación de riesgo y los diversos factores que pueden detonar la formación de nuevos puntos de susceptibilidad, así como de los planes parciales de desarrollo para que ellos mismos sean quienes vigilen y colaboren a regular los asentamientos en la parte baja.

## Literatura citada

- Chávez, M., Binnqüist, G. & Salas, A. (2017). Evaluación multicriterio de la vulnerabilidad biofísica ante inundaciones en la subcuenca río Atoyac-Oaxaca de Juárez. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 4(10), 97-109.
- Comisión Nacional de Aguas, (CONAGUA), (2018). Información Estadística Climatológica. Recuperado de <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (CONANP), (2014). Estudio previo justificativo para la declaratoria como área natural protegida: Peña Colorada.
- Coronel, A., Feldman, S. & Piacentini R. (2014). Efecto de agricultura y forestación urbana y peri-urbana sobre la mitigación y adaptación al cambio climático: impactos sobre la temperatura. (Informe técnico, Universidad Nacional del Rosario).
- Cortés, J., Cortés, H. & Rodríguez, Y. (2015). Actualización cartográfica de la Reserva Hídrica de la Laguna Suesca, Cundinamarca por medio de imágenes aéreas (Trabajo de grado, Universidad Distrital Francisco José De Caldas).
- Dourojeanni, A. y Jouravlev, A. (1999). Gestión de cuencas y ríos vinculados con centros urbanos. Recuperado de [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/31384/S99120968\\_es.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/31384/S99120968_es.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Hernández, J. y Vieyra, A. (2010). Riesgo por inundaciones en asentamientos precarios del periurbano. Morelia, una ciudad media mexicana. ¿El desastre nace o se hace? *Revista de Geografía Norte Grande*, 47, 45-62.
- Instituto Municipal de Planeación del Municipio de Querétaro, (IMPLAN), (2018a). Carta Topográfica [Mapa de crecimiento del área urbana 1970-2018].
- Instituto Municipal de Planeación del Municipio de Querétaro, (IMPLAN), (2018b). Carta Topográfica [Asentamientos irregulares y de marginación].
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (1973). Carta Topográfica [Carta de Uso de suelo Querétaro y Guanajuato, escala 1: 50,000].
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (2007). Conjunto de Datos Vectorial Edafológico. Escala 1:250000 Serie II Continuo Nacional Querétaro.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (2013). Conjunto de datos vectoriales de Uso del Suelo y Vegetación. Escala 1:250 000, Serie V.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (2015a). XII Censo General de Población y Vivienda 2000 [Censos poblacionales del Estado de Querétaro de 2000.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (2015b). Conjunto de datos vectoriales de información topográfica F14C65 Querétaro escala 1:50000 serie III.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, (INEGI), (2020). Censo de Población y Vivienda 2020 [Censos poblacionales del Estado de Querétaro de 2020.
- Kirpich ZP. 1940. Time of concentration of small agricultural watersheds. *Journal of Civil Engineering*. 10(6): 362
- Pladeyra, D. (2003). Paisajes hidrológicos y balance hídrico de la cuenca Lerma-Chapala.
- Peña, A. (2017). Estrategia de manejo para la mitigación del riesgo por inundaciones en la microcuenca San José el Alto, Querétaro. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Pérez, A., Gil, S. & Olcina, J. (2015). Housing bubbles and the increase of flood exposure. Failures in flood risk management on the Spanish south-eastern coast (1975–2013). *Journal of Flood Risk Management*, 11(2018), 302-313.
- Tinsa C. (2009). Querétaro un nuevo polo de desarrollo. Recuperado de [https://www.tinsamexico.mx/wp-content/uploads/2016/10/T\\_WP\\_queretaro.pdf](https://www.tinsamexico.mx/wp-content/uploads/2016/10/T_WP_queretaro.pdf)
- Zimmermann, E. & Bracalenti, L. (2014). Reducción de riesgo de inundación urbana mediante incremento de áreas para la agricultura y la forestación urbana y periurbana. IV Taller de Regionalización de Precipitaciones Máximas.

# Efecto del uso conjunto de plasma seminal bovino y extracto antioxidante de nopal como aditivo para la congelación de espermatozoides ovinos

**Zarraga-González A. L.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Montiel-Olguín L. J.**

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Querétaro, México.

**Jiménez-Severiano H.**

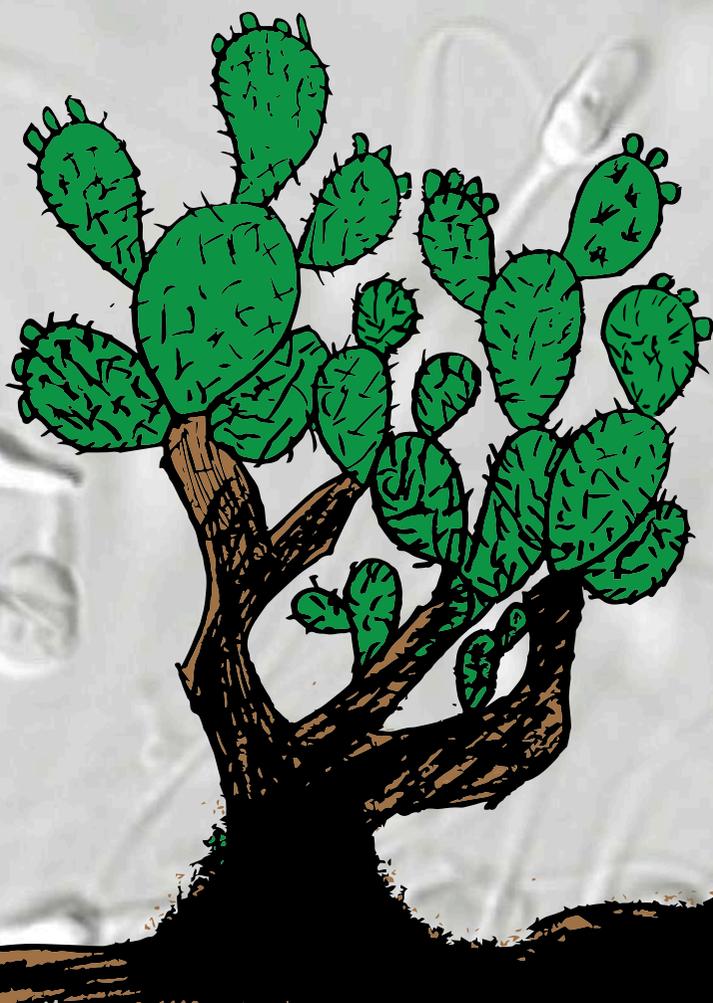
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Querétaro, México.

**Cantó-Alarcón G. J.**

**Pérez-Trejo E.**

**Vera-Ávila H. R.**

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.



# Introducción

La importancia de la criopreservación de espermatozoides ovinos radica en mantener la fisiología y morfología del espermatozoide en estado óptimo para la fecundación (Juyena & Stelletta, 2012). Durante dicho proceso se produce daño en las células espermáticas que pueden ser de tipo funcional, químico o estructural (Salamon & Maxwell, 2000). Se sabe que las células espermáticas de carnero son más susceptibles a estos daños debido a su alto contenido de fosfolípidos insaturados en su membrana (White, 1993). Lo anterior normalmente se compensa incluyendo una mayor cantidad de espermatozoides por dosis para inseminación, lo cual reduce el número de dosis por eyaculado y el impacto potencial de machos genéticamente sobresalientes sobre la población. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas que nos permitan reducir estos daños. En este estudio se evaluó el efecto que se produce al adicionar conjuntamente plasma seminal heteroespecífico como estabilizador de la membrana y extracto antioxidante de nopal como promotor del incremento de la motilidad progresiva (Vargas-Menéndez, et al., 2019 y Olvera-Bermúdez et al., 2019). Se determinaron varios parámetros de motilidad, así como la integridad y estabilidad funcional de la membrana celular/acrosómica de los espermatozoides de carnero sometidos a congelación y descongelación.

## Metodología

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Unidad Amazcala, Fa-

cultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Como donadores de semen se emplearon 4 carneros Black Belly, adultos, con capacidad reproductiva y antecedentes de fertilidad normal en condiciones de monta natural. El plasma seminal se obtuvo de toros con alto nivel de resistencia espermática a la congelación. Para la separación de plasma seminal los eyaculados se centrifugaron a 4 °C por 15 min a 2 000 rpm y el sobrenadante obtenido se centrifugo de nuevo a 10 000 rpm durante 60 min, y se congeló a -70 °C (Vargas-Menendez et al., 2019). Para la obtención de extracto acetónico de nopal se obtuvieron pecas de *Opuntia ficus var. copena* F1 con un grado uniforme de maduración. Se deshidrataron por método convectivo a 55°C durante 72 h. Posteriormente fue triturado y mezclado a 700 rpm con una razón de 5g por 100 ml de mezcla acetona/agua en una proporción 70:30, durante 96 h a temperatura ambiente, después fue filtrado, liofilizado y refrigerado a 5°C en frascos ámbar (Olvera-Bermudez et al., 2019).

En cada uno de los experimentos y sus repeticiones (15), se colectaron eyaculados por medio de vagina artificial, se realizó un “pool” de semen a partir del cual se obtuvieron las alícuotas correspondientes; de esta manera se controló el efecto de individuo sobre las características del eyaculado. El diluyente/extensor para procesamiento fue en todos los casos uno comercial (OPTIDYL, CRYO-VET). En el tratamiento control (T0) se adicionó únicamente el diluyente; al tratamiento 1 (T1) se agregó el diluyente con 5% de plasma seminal; al tratamiento 2 (T2) se le añadió el diluyente comer-

cial con 0.5% de extracto acetónico de nopal; y al tratamiento 3 (T3) se adicionó el diluyente, 5% de plasma seminal y 0.5% de extracto acetónico de nopal. El proceso de extensión se realizó a manera de obtener una concentración de  $200 \times 10^6$  células espermáticas/ml, posteriormente se llevó a enfriamiento de 37 a 4 °C, en un tiempo de 4 h y posteriormente un tiempo de equilibrio de 18 h. Se empaquetó en pajillas de 0.25 ml, sellado con alcohol polivinílico y congelado 15 min a 5 cm del espejo de nitrógeno líquido en cámara de congelación y después transferido a nitrógeno líquido.

Para determinar la sobrevivencia y funcionalidad de las células espermáticas posdescongelado se realizaron las siguientes pruebas: motilidad y sus características, así como morfología espermática, por medio de un sistema de análisis de semen auxiliado por computadora (CASA, IVOS II Animal-Hamilton Thorne™); integridad funcional de la membrana espermática por medio de la prueba de expansión hipo osmótica (HOST; Olvera-Bermudez et al., 2019). El análisis estadístico se realizó por ANDEVA para un diseño de bloques completos aleatorizados, considerando como único factor al tratamiento y a las réplicas como bloques.

## Resultados y discusión

En los resultados obtenidos por el sistema de análisis computarizado (CASA), se observa que las variables de motilidad, motilidad total (MT), velocidad curvilínea (VCL), velocidad media (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR) e índice de oscilación (WOB), se

vieron influenciadas por los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). Las anomalías totales y porcentaje de espermatozoides H+ también (Cuadro 1).

Posterior al descongelado y evaluación se observa una disminución en los parámetros de motilidad total (MT), velocidad curvilínea (VCL) y velocidad media (VAP) al adicionar en conjunto el plasma seminal y el extracto de nopal (T3). Por otra parte, la adición de extracto de nopal (T2) o la combinación de éste con plasma seminal (T3) mejoraron los parámetros de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR) e índice de oscilación (WOB).

Asimismo, se observó una tendencia de incremento ( $P=0.12$ ) de la motilidad progresiva al añadir extracto de nopal (T2; +3.5 puntos porcentuales con respecto al grupo testigo), aunque con una pequeña disminución de los porcentajes de hinchazón hipo osmótica (H+) y aumento de anomalías totales (AT), en estas dos últimas variables, de manera similar a lo observado en el grupo con adición conjunta de plasma seminal más extracto de nopal (T3).

**Cuadro 1. Evaluación de motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR) e índice de oscilación (WOB), anomalías totales (AT) e hinchazón hipo osmótica (H+) en espermatozoides de carnero post descongelación con adición de plasma seminal y extracto acetónico de nopal al diluyente para congelación con las siguientes concentraciones: diluyente comercial (T0), plasma seminal al 5% (T1), extracto de nopal al 0.5% (T2) y plasma seminal al 5% y extracto de nopal al 0.5% (T3).**

VARIABLE	T0	T1	T2	T3	e.e.m.	P
MT (%)	49.45 <sup>a</sup>	49.40 <sup>a</sup>	45.58 <sup>a</sup>	39.65 <sup>b</sup>	2.06	<0.01
MP (%)	15.78	17.40	19.25	16.19	1.08	0.12
VCL (µm/seg)	165.52 <sup>ab</sup>	169.44 <sup>a</sup>	151.74 <sup>bc</sup>	136.24 <sup>c</sup>	5.98	<0.01
VSL (µm/seg)	60.33	62.73	65.86	60.22	2.17	0.23
VAP (µm/seg)	81.09 <sup>a</sup>	83.88 <sup>a</sup>	79.51 <sup>aab</sup>	72.37 <sup>b</sup>	2.74	0.03
LIN (%)	42.11 <sup>a</sup>	41.53 <sup>a</sup>	45.99 <sup>b</sup>	48.56 <sup>b</sup>	0.90	<.001
STR (%)	74.46 <sup>a</sup>	74.7 <sup>a</sup>	83.02 <sup>b</sup>	83.37 <sup>b</sup>	0.60	<0.001
WOB (%)	49.12 <sup>a</sup>	49.57 <sup>a</sup>	52.68 <sup>b</sup>	54.11 <sup>b</sup>	0.66	<0.001
AT (%)	3.37 <sup>a</sup>	3.43 <sup>a</sup>	4.24 <sup>b</sup>	5.31 <sup>b</sup>	0.48	0.02
H+ (%)	35.29 <sup>ab</sup>	35.86 <sup>a</sup>	32.81 <sup>c</sup>	33.13 <sup>bc</sup>	0.78	0.02

*Nota: Literales diferentes dentro de filas indican diferencia estadística.*

Olvera-Bermúdez et al., (2019) señala que la adición de 0.5% de extracto acetónico de nopal al diluyente para congelación aumentó la motilidad progresiva posterior a la descongelación de los espermatozoides de carnero (+5.5 puntos porcentuales con respecto al testigo). Durante el presente estudio, se observó una tendencia de incremento de la motilidad progresiva similar, al adicionar el mismo porcentaje de extracto de nopal al diluyente. La motilidad progresiva de los espermatozoides es una característica de calidad seminal importante, ya que permite a los espermatozoides pasar a través del moco cervical, ingresar al oviducto por la unión útero-tubárica y ayuda a penetrar

las cubiertas que acompañan al óvulo para fecundarlo (Mortimer et al., 2012). A diferencia de lo observado por Vargas-Menéndez et al. (2019), en el presente estudio solo se observó un pequeño efecto positivo, no estadísticamente significativo, sobre la integridad funcional de membrana al utilizar como aditivo del diluyente plasma seminal heteroespecífico. La posible razón para esta diferencia no se explica por una diferente composición del plasma seminal utilizado ya que en ambos experimentos provino del mismo "stock". Sin embargo, no se podría descartar un efecto detrimental sobre las características del plasma seminal por efecto de tiempo de conservación en congelación.

Por otra parte, la adición combinada de plasma seminal heteroespecífico y extracto de nopal no solo no presentó un efecto positivo sobre la calidad seminal, sino que afectó varios parámetros relacionados con ésta. Una posibilidad es que la sustitución de diluyente por los aditivos en el tratamiento combinado, ejerciera un efecto de dilución disminuyendo el efecto protector del primero, aunque esto es especulativo.

## Conclusiones

Los resultados indican que el uso combinado de plasma seminal heteroespecífico y extracto antioxidante de nopal, como aditivos de un diluyente comercial para congelación de semen ovino, no ejerce un efecto sinérgico positivo sobre la calidad de los espermatozoides al postdescongelado.

## Literatura citada

- Juyena, N.S. & Stelletta, C. (2012). Seminal Plasma: An Essential Attribute to Spermatozoa. *J. Androl.* 33: 536-551.
- Mortimer, D., & Mortimer, S. T. (2012). Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) of Sperm Motility and Hyperactivation. *Spermatogenesis.* 77-87.
- Olvera-Bermúdez O. Ferriz-Martínez, R.A., Montiel-Olguín, L. J., Jiménez-Severiano, H., Perez-Trejo, E., Gómez-Soto, J. G., Vera-Ávila H. R. (2019). Uso de extracto acetónico de nopal (*Opuntia ficus var. Copena F1*) como aditivo en la congelación de semen ovino. *Rev. Acad. Cien. Pec.* 17(supl 1), 385-387.
- Salamon, S., & Maxwell, W. M. (2000). Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62(1-3), 77-111.
- Vargas-Menéndez, X, Andrade-Montemayor H., Jiménez-Severiano, H., Montiel-Olguín, L. J, Gómez-Soto, J. G., Vera-Ávila H. R. (2019). Evaluación del efecto de plasma seminal hetero específico (bovino a ovino) sobre la congelabilidad de semen de carnero. *Rev. Acad. Cien. Pec.*, 17(supl 1): 358-360.
- White, I. G. (1993) Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: a review. *Reprod. Fert. Develop.* 5, 639-658.

# Análisis de la Estacionalidad de ovejas Black Belly, Romanov y East Friesian en la comunidad de Amazcala, El Marqués, Qro.

*Amador-Castro D. C.*

*Andrade-Montemayor H. M.*

*Urrutia-Morales J.*

*Pérez-Trejo E.*

Especialidad en nutrición y Reproducción de Ovinos y  
Caprinos, Facultad de Ciencias Naturales.



# Resumen

El objetivo del presente trabajo fue confirmar la presencia de estacionalidad e identificar su efecto en el comportamiento reproductivo de hembras ovinas de las razas East Friesian, Romanov y Black Belly, durante los años 2015 al 2017. El trabajo se realizó en la Unidad de producción Animal de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro ubicada en la comunidad de San Miguel de Amazcala en el municipio Queretano de El Marqués cuya latitud norte es de 20.74°; Para lo cual se evaluó la información reproductiva de: 225 borregas Romanov, 551 borregas East Friesian, y 470 borregas Black Belly, durante los años 2015 a 2017, y las estaciones del año (primavera, verano, otoño e invierno). Las variables de respuesta fueron: fertilidad (Porcentaje de animales con diagnóstico positivo por empadre) porcentaje de pariciones (animales paridos por empadre), la prolificidad (número de animales nacidos por hembra) y porcentaje de pérdida (animales paridos respecto a animales con diagnóstico positivo). El diagnóstico de gestación se realizó por medio de ultrasonido, entre los 35 y 60 días de gestación. Los resultados obtenidos indicaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de fertilidad al diagnóstico de gestación de acuerdo a la raza, siendo mayor en las ovejas de raza Black Belly ( $78.36\% \pm 5.28$ ) y menor pero dentro del mismo grupo para las razas Romanov ( $53.64\% \pm 5.28$ ) y East Friesian ( $60.47\% \pm 5.28$ ). Respecto a la fertilidad reflejada en partos fue mayor para la raza Black Belly ( $56.39\% \pm 6.05$ ) y menor para Romanov ( $24.45\% \pm 6.05$ ) y East Frie-

sian ( $39.08\% \pm 6.05$ ). El porcentaje de pérdidas de gestación fue menor en las razas Black Belly ( $29.96\% \pm 7.45$ ) y East Friesian ( $37.72\% \pm 7.45$ ) y mayor para Romanov ( $65.24\% \pm 7.45$ ). En cuanto a la prolificidad considerando solo el factor raza no se obtuvo diferencia sin embargo en la interacción año x raza se observó diferencia ( $P < 0.05$ ). El efecto de la estación solo presentó diferencias ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de fertilidad al diagnóstico siendo menor en verano ( $50.16\% \pm 6.22$ ). Ya que fue la época en la que se obtuvieron los menores porcentajes de animales con diagnóstico de gestación positivo así como de animales paridos mientras que la época con mejores valores fue invierno presentando menor porcentaje de pérdidas gestacionales y el mayor de animales paridos, si bien las diferencias no fueron significativas para el análisis estadísticos es importante observar a detalle los porcentajes que indican la existencia de un efecto de estación debido al porcentajes tan variados comparando invierno con el resto de estaciones. Derivado de ésta podemos concluir que el efecto de la raza fue el que mayor peso tuvo en las variables de fertilidad (al diagnóstico y al parto) siendo las hembras de raza Black Belly las que presentaron mejores resultados, posiblemente por su adaptación al ser originaria de región tropical, mientras que la raza Romanov fue la que mostró el menor desempeño en fertilidad, propio de razas de latitudes altas mientras que la East Friesian si bien no logró equiparar el desempeño de la raza Black Belly mostró una mejor adaptación.

# Evaluación de variables edáficas y dasométricas para la integración de plan de manejo del bosque de pino piñonero en la cuenca norte del Pinal de Zamorano.

*Méndez-Vázquez, E. P.*

Maestría en Gestión Integral de Cuencas. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

Centro Interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato, México.

*Cambrón-Sandoval, V. H.*

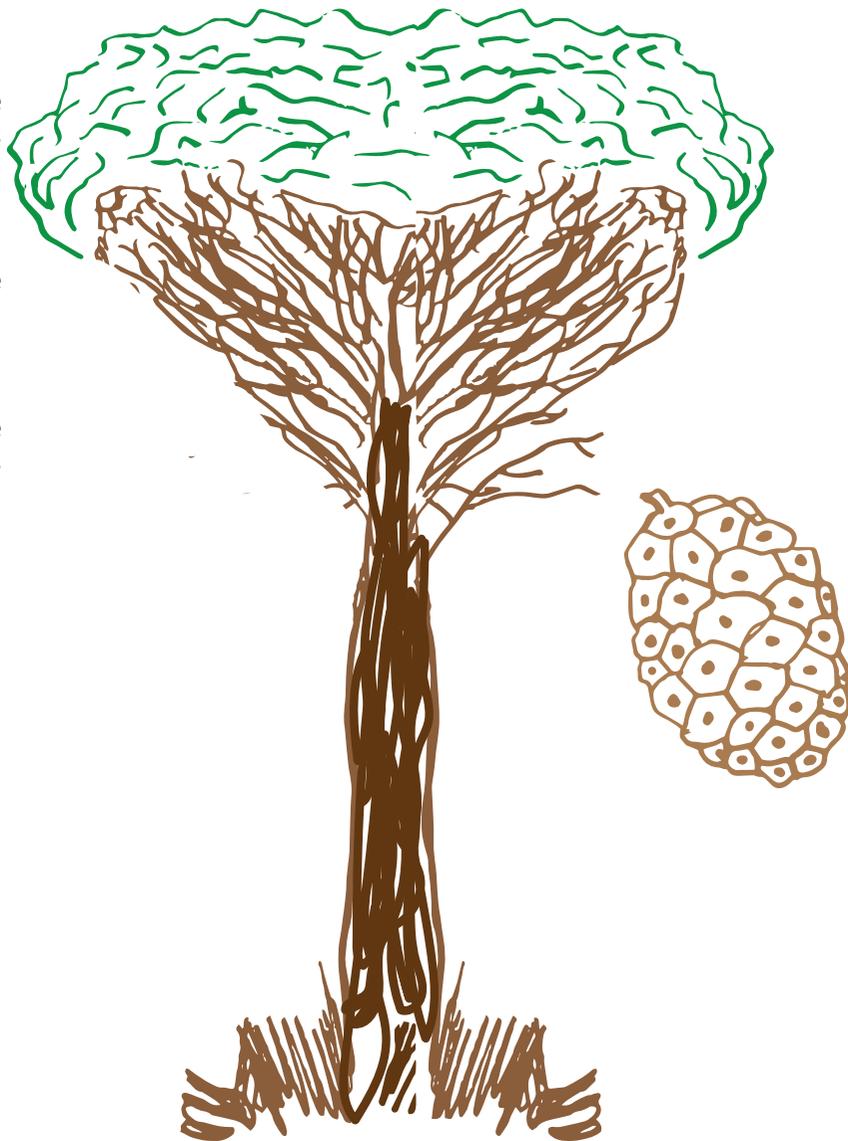
Maestría en Gestión Integral de Cuencas. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

*Díaz-Cervantes, E.*

Centro Interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato, México.

*Pineda-López, R. F.*

Maestría en Gestión Integral de Cuencas. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.



# Resumen

Los bosques de pino piñonero (*Pinus cembroides* Zucc) están distribuidos entre los bosques templados y zonas áridas generalmente crecen sobre laderas de escaso perfil edáfico y poca disponibilidad de nutrientes, lo que los vuelve muy susceptibles a las prácticas de manejo; en las regiones donde habita son aprovechados como fuente de recursos maderables, dendroenergéticos y sobre todo alimenticio por el gran aprecio de su semilla en la industria alimentaria. En la cuenca norte del Pinal de Zamorano se observan procesos de degradación de las funciones ecosistémicas; en este territorio el bosque de piñonero presenta una baja productividad que consecuentemente genera bajos ingresos económicos para los habitantes. El objetivo del presente trabajo fue la identificación de variables dasométricas, ambientales y edáficas del bosque de piñonero que permi-

tan ubicar relaciones entre ellas para esbozar mejores prácticas de manejo buscando el incremento de productividad y el sostenimiento de los procesos ecosistémicos. Las variables dasométricas y ecológicas se recabaron bajo la metodología empleada por CONAFOR para el Inventario Forestal y de Suelos y las características fisicoquímicas de los suelos con metodologías de la NOM-021-RECNAT-2000 en tres unidades de escurrimiento de aproximadamente 30 hectáreas cada una categorizadas en gabinete en unidades de alta, media y baja productividad mediante el índice NDVI (Normalized Difference Vegetation Index). Las correlaciones estadísticas muestran la interdependencia de los atributos del arbolado con la calidad de suelo en distintos grados, lo cual permite ubicar las variables que influyen en la productividad y sostenibilidad ambiental en la cuenca forestal, éste análisis permite promover mejores prácticas de manejo a nivel de la cuenca.

# Expresión de genes asociados a respuestas citotóxicas y tolerantes en la transformación genital pre-oncogénica del lobo marino de California

*Nieves-Martínez, D. P.*

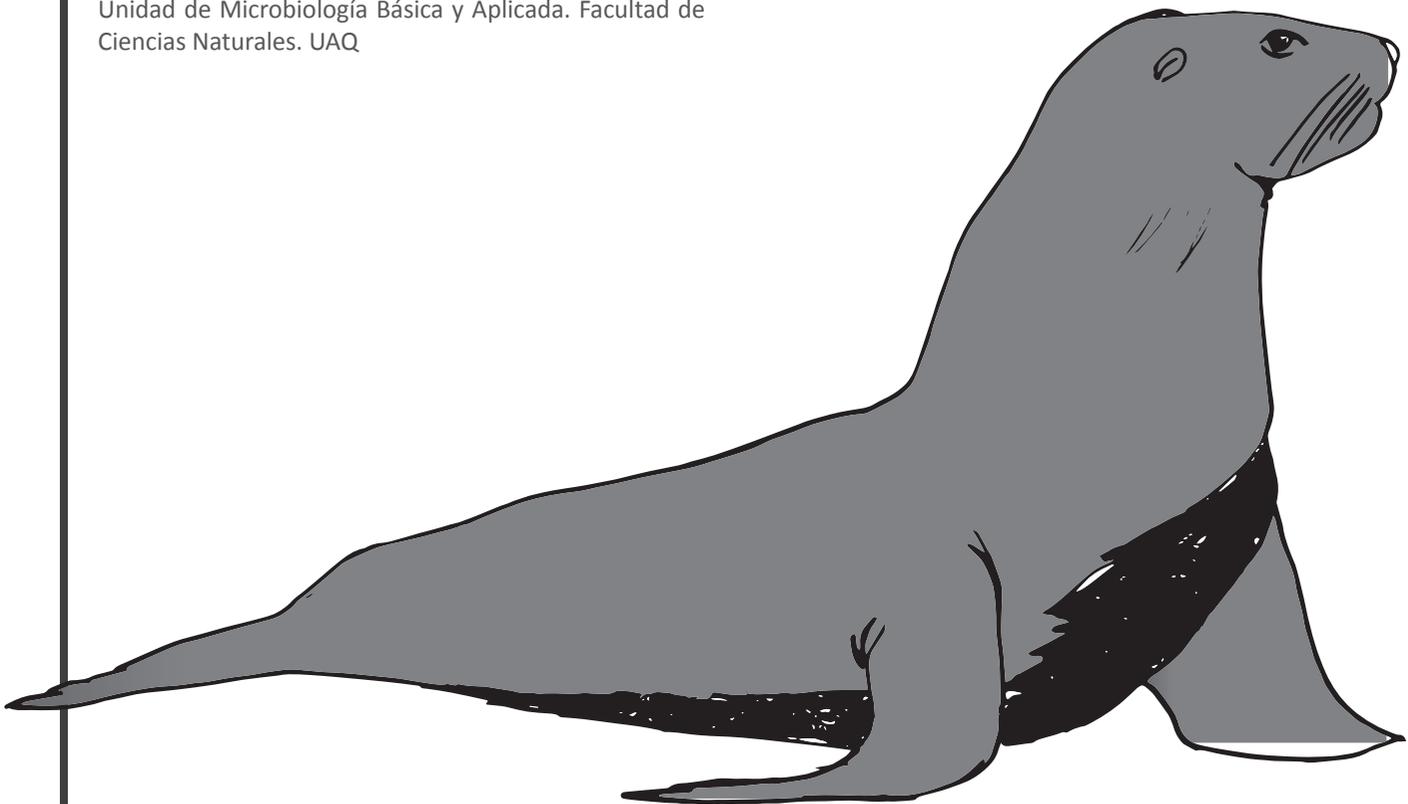
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.

*Acevedo-Whitehouse, K. A.*

*Domínguez-Sánchez, C. A.*

*Peñín-Fernández, I.*

Unidad de Microbiología Básica y Aplicada. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Resumen

El carcinoma urogenital (CUG) presenta una prevalencia del 26% en individuos adultos varados en las costas de California

E.E.U.U. La causa se ha atribuido a factores genéticos, infección por virus oncogénicos, particularmente el herpesvirus otárico (OthV-1) y el papillomavirus otárico (ZcPV-1) y a contaminación por organoclorados. En el Golfo de California no se han reportado casos de CUG. Sin embargo, las hembras adultas presentan transformaciones epiteliales pre-oncogénicas, pero estas a menudo son reversibles. Esta reversión de la transformación es fomentada por el sistema inmunológico. Las células T CD8+ y Natural Killer (NK), así como las T CD4+ y Treg llevan a cabo procesos citotóxicos antivirales y antitumorales por lo que su ausencia puede resultar en el desarrollo de un tumor. Un estudio observó que los lobos marinos pueden presentar anergia al estar en contacto constante con organoclorados, lo cual impide que se lleven a cabo estos procesos citotóxicos y de inmunovigilancia, haciendo que los individuos sean más susceptibles a padecer enfermedades. Resulta relevante conocer si los niveles de transcripción de genes indicativos de actividades antivirales y antitumorales a nivel localizado juegan un papel importante en la transformación genital pre-oncogénica, y si esta expresión está asociada a la presencia de virus oncogénicos. Se obtuvieron cepillados cervicales de hembras adultas de lobo marino de California de 13 colonias reproductivas en el Golfo de California. Se

cuantificó la expresión génica mediante RT-qPCR de genes representativos de respuestas CD4 + Th1 (STAT-1, Tbet) y CD8 + Th1 (EOMES, perforina y granzimaB), respuestas Th2 (GATA3), respuestas Treg (FoxP3) y respuesta citotóxica innata (Ly49, perforina y granzima B). El nivel de displasia se categoriza de acuerdo al Sistema Bethesda. Negativo a lesión intraepitelial, LSIL (cambios de bajo grado) y ASCUS (células atípicas de significado indeterminado). Se analizó la relación entre el nivel de transcripción de los genes con el nivel de displasia celular y con la presencia o ausencia de infección por OthV-1 y ZcPV-1. Se encontraron diferentes patrones de expresión de ciertos genes que parecen estar relacionados con la infección genital de los virus oncogénicos. El patrón de expresión de FOXP3 fue diferente en individuos negativos a lesión intraepitelial y positivos a OthV-1. Se observó una expresión tardía con respecto a los genes de referencia. El gen codificador de granzima B se encontró subexpresado en individuos con ASCUS y con presencia de infecciones. STAT-6 también presenta un patrón diferente, se observó subexpresado en individuos sin infección pero con ASCUS. Con estos resultados parciales se observa que la expresión de ciertos genes parece estar relacionada con el nivel de transformación epitelial y por la presencia o ausencia de los virus oncogénicos.

# Propuesta de manejo del agua para la actividad agrícola en la microcuenca Fuentezuelas, Tequisquiapan, Querétaro.

*Reséndiz Velázquez, M.*

*García Tello, D. P.*

Maestría en Gestión Integrada de Cuencas.

Facultad de Ciencias Naturales. UAQ.



# Resumen

El manejo del agua en la actividad agrícola, resulta de gran importancia en la actualidad ya que las prácticas agrícolas deficientes y los usos inapropiados de los recursos naturales han sido una causa importante en la degradación de estos mismos. Por lo que resulta esencial que sean manejados de manera estratégica, para encontrar un equilibrio entre todos los factores que integran la cuenca. El presente trabajo muestra el caso particular de la microcuenca Fuentezuelas que se ubica en el municipio de Tequisquiapan en el Estado de Querétaro, lugar en el cual se lleva a cabo la actividad agrícola como labor importante en la economía local y familiar. La microcuenca Fuentezuelas es un territorio en el que la actividad agrícola ha ido en aumento, a causa de la demanda de alimentos que existe en la actualidad, además de la demanda de tierras de cultivo con infraestructura de riego y el agua disponible en esta zona. Esto ha generado cuestionamientos acerca del manejo y distribución del recurso hídrico, así como sobre las acciones del gobierno que pudieran haber contribuido al uso no eficiente del agua en la agricultura y los cambios que se están realizando en las políticas públicas dirigidas al manejo del recurso hídrico en la actividad agrícola. De tal forma que el impacto generado por el mal manejo del agua en la actividad agrícola podría resultar en problemas de disponibilidad, desperdicio y contaminación del agua, y es que, ante una situación de escasez del agua, la amenaza se cierne sobre tres aspectos fundamentales del bienestar humano: la producción de alimentos, la salud y la

estabilidad política y social (Avilés, 2006). Por ello, es importante conocer el uso y la relación social que los agricultores le dan al recurso hídrico, para así poder proponer acciones para el manejo del agua para la actividad agrícola bajo el enfoque de cuencas, ya que el manejo apropiado de una cuenca brinda beneficios a la sociedad, que se origina en una amplia gama de bienes y servicios ecosistémicos que parten de mantener las funciones ecológicas, sociales y económicas de la propia cuenca a partir de un manejo participativo, adaptativo, sistemático y con visión a largo plazo en el territorio (Cotler, Galindo, González, Pineda y Ríos, 2013). También, es importante destacar que para hacer una buena gestión del agua en la agricultura se requiere una fuerte relación del productor con su entorno inmediato, y en particular, con los oferentes de tecnología, la cual viene en forma de conocimiento, pero también en materiales, semillas, equipos y servicios (IICA, 2015). De este modo se espera que a partir de la propuesta de manejo del agua para la actividad agrícola en la microcuenca Fuentezuelas, las técnicas para llevar a cabo esta actividad se enfoquen a una agricultura ambientalmente más sana, socialmente más justa y económicamente más viable. A fin de que los principales beneficiarios que son los agricultores, campesinos, ejidatarios y habitantes de las localidades existentes dentro de la microcuenca, lleven a cabo un buen manejo de los recursos naturales para garantizar una buena calidad de vida y un buen desarrollo de actividades.





