



Vol. 11
Tomo II

Diario de Campo

Innovación
investigativa
y Académica

Diario de campo

Innovación investigativa y académica

Vol. 11 / Tomo II



**UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA**

SELLO EDITORIAL

© 2021, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Bogotá, Colombia

Diario de campo Vol. 11 Tomo II
ISBN: 978-958-5198-10-4

María Ruth Hernández Martínez

Rectora

Ana Isabel Mora Bautista

Vicerrectora Académica

Sandra Julieth Moncada Casanova

Vicerrector Administrativo

Comité Editorial Institucional

Ana Isabel Mora Bautista

Vicerrectora Académica

Martha Cecilia Torres López

Subdirección de Investigación, Innovación y Desarrollo

Laura Marcela Tello Beltrán

Jefe División de Promoción y Relaciones Interinstitucionales

Sandra Mónica Estupiñán Torres

Decana designada por el Consejo Académico

Lugo Manuel Barbosa Guerrero

Representante de los docentes ante el Consejo Superior Universitario

Leonardo Montenegro Martínez

Representante de las revistas institucionales

Mónica Alejandra Quintana Rey

Editor Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Mayra Alejandra Moreno Puentes

Profesional de Apoyo administrativo al Sello Editorial

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Corrección de estilo, diseño y diagramación Xpress Estudio Gráfico y Digital SAS - Kimpres Carrera 69H # 77-40 Concepto de diseño: Bennuart Studio/Juan Carlos Cuantas Méndez
Hecho en Colombia / Made in Colombia

Contenido

5 Presentación

11 Capítulo 1

Alteraciones de la molécula de hemoglobina: adquirida y hereditaria en estudiantes afrodescendientes de Unicolmayor

Martha Castillo Bohórquez

Ana Lucía Oliveros Rozo

31 Capítulo 2

Caracterización social que incide en la salud de las familias rurales del municipio de Guayabetal

Yamile Edith Borda Pérez

Clemencia del Carmen Gaitán Didier

57

Capítulo 3

Potencial de dos plantas macrófitas invasivas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* como antimicrobianas contra microorganismos patógenos de humanos, animales y plantas

Ligia Consuelo Sánchez Leal

Martha Lucía Posada Buitrago

Ruth Páez Díaz

Edisson Tello Camacho

Jimmy Jolman Vargas Duarte

81

Capítulo 4

Detección de *treponema pallidum subespecie pallidum* en muestras clínicas para el diagnóstico de sífilis congénita mediante la utilización de variantes de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

Milena P. Barbosa

Brigete S. González

Jeannette Navarrete Ospina

Liliana Muñoz Molina

Gladys Pinilla Bermúdez

105

Capítulo 5

Caenorhabditis elegans cepa transgénica HA759: modelo para estudios de la enfermedad de Huntington con extractos de plantas

Ruth Melida Sanchez Mora

Martha Gómez Jiménez

Adriana Monroy

Polimorfismos en el gen de la Mieloperoxidasa aumenta la susceptibilidad a infecciones

Lina M. Riaño Parra

Andrea Cruz Baquero

Liliana Muñoz M.

Jeannette Navarrete

Gladys Pinilla

Presentación

La serie Diario de Campo se ha convertido a lo largo de los años en uno de los escenarios de divulgación por excelencia de la producción académica y científica que desarrollan los grupos de investigación de la Universidad Colegio mayor de Cundinamarca. Desde su primer número en 2010, ha tenido el objetivo de difundir para la comunidad académica en particular, y para la sociedad colombiana en general, los avances que a través del quehacer minucioso se desarrollan en el marco de las actividades universitarias.

En ese sentido, en el primer capítulo titulado *Alteraciones de la molécula de hemoglobina adquirida y hereditaria en estudiantes afrodescendientes de Unicolmayor*, de las autoras Martha Castillo Bohórquez y Ana Lucía Oliveros el lector encontrará el desarrollo de una investigación realizada con una muestra de la población estudiantil afrodescendiente de la Universidad, a través de la cual se buscaba identificar la deficiencia de hierro.

En el segundo capítulo, titulado *Caracterización social que incide en la salud de familias rurales del municipio de Guayabetal*, de las autoras Yamile Edith Borda Pérez y Clemencia de la Carmen Gaitán Didier, demuestran la importancia de comprender cómo el contexto socio-económico de una población puede incidir en las condiciones de salud de la misma; además, le permite al trabajador social proponer desde su quehacer el desarrollo de actividades que repercutan positivamente en el bienestar de los integrantes de un territorio en específico, en este caso de los residentes del municipio de Guayabetal, Cundinamarca.

El tercer capítulo llamado *Potencial de dos plantas macrofitas invasivas Eichhornia crassipes y Lemna gibba como antimicrobianas contra microorganismos patógenos de humanos, animales y plantas*, de autoría de Ligia Consuelo Sánchez Leal, Martha Lucía Postada Buitrago, Ruth Páez Díaz, Edison Tello Camacho y Jimmy Jolman Vargas Duarte, presentan la revisión documental realizada con la finalidad de determinar la acción antimicrobiana de las plantas Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y Lenteja de agua (*Lemna gibba*) con la finalidad de ofrecer alternativas para tratar la resistencia de patógenos en humanos y animales.

Por su parte, las autoras Milena P. Barbosa, Brigete S. González, Jeannette Navarrete Ospina, Liliana Muñoz Medina y Gladys Pinilla Bermúdez, en el capítulo *Detección de treponema pallidum subespecie pallidum en muestras clínicas para el diagnóstico de sífilis* congénita mediante la utilización de variantes de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, realizan un estudio de la variantes de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para identificar la presencia del gen TpN47 con el fin de detectar la presencia del *Treponema pallidum subespecie pallidum* para la detección de la sífilis.

En el quinto capítulo titulado *Caenorhabditis elegans cepa transgénica HA759: modelo para estudios de la enfermedad de Huntington con extractos de plantas*, los autores Ruth Mérida Sánchez Mora, Martha Gómez Jiménez y Adriana Monroy, muestran al lector cómo se usa la cepa HA759 para el estudio de la Enfermedad de Huntington.

Finalmente, en el capítulo sexto titulado *Polimorfismos en el gen de la Mieloperoxidasa aumenta la susceptibilidad a infecciones*, las autoras Lina M. Riaño Parra, Andrea Cruz Baquero, Liliana Muñoz Medina, Jeannette Navarrete Ospina y Gladys Pinilla Bermúdez, presentan una revisión bibliográfica

fica en la que se presentan algunos estudios sobre deficiencia de mieloperoxidasa y sus consecuencias en la salud.

Esperamos que este tomo sea del agrado e interés de la comunidad académica y de la sociedad colombiana.

Capítulo 1

Alteraciones de la molécula de hemoglobina: adquirida y hereditaria en estudiantes afrodescendientes de Unicolmayor

Martha Castillo Bohórquez
Ana Lucía Oliveros Rozo

Resumen

La Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca incluye población de régimen especial como los afrodescendientes. ¿Qué frecuencia de anemias ferropénicas y hemoglobinopatías existen en la población afrodescendiente de la Universidad?

La anemia más común es la ferropénica. Las alteraciones genéticas de la molécula de hemoglobina más frecuente es el rasgo de Hemoglobina S, Hemoglobina C y beta talasemias.

Las pruebas del estudio son: hemograma, estudio de sangre periférico, ferritina sérica, electroforesis ácida y alcalina de hemoglobina.

Investigación tipo descriptivo, cuantitativa y transversal, no experimental, no probabilística a conveniencia, diseño muestral: 17 muestras.

Los resultados fueron: deficiencias subclínicas de hierro en 20% de mujeres, rasgo Hemoglobina C en participantes 4 y 11; ras-

go de beta talasemia en participantes 8, 11 y 13; participante 11, sugestivo de presentar Hemoglobina C y rasgo de β talasemia.

Recomendación: realizar estudio de población estudiantil de la Universidad para determinar deficiencias nutricionales y genéticos de la hemoglobina.

Marco teórico y estado del arte

Durante la Colonia, llegaron a Colombia esclavos afrodescendientes provenientes de África, quienes se localizaron en las regiones costeras. En esta población es frecuente encontrar alteraciones en la molécula de hemoglobina y, según condiciones socioeconómicas presentarse deficiencias nutricionales. La Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, incluye afrodescendientes como población de régimen especial.

La anemia más común es la ferropénica, la ferritina indica las reservas de hierro en el organismo, al disminuir conlleva a ferropenia. Las alteraciones genéticas de la molécula de hemoglobina más comunes son rasgo de la hemoglobina S, hemoglobina C y beta talasemias.

La anemia es una de las alteraciones más comunes a nivel mundial, y la anemia ferropénica se considera como responsable del 50 % de estas, relacionadas en la gran mayoría con alteraciones de tipo nutricional. Se estima que en América se encuentran 100 millones de personas con anemia ferropénica, principalmente en Estados Unidos, Brasil, Colombia y países del Caribe. En Colombia, la prevalencia de este tipo de anemia es de 46% en embarazadas y de 47% en escolares. Considerando que la presencia de las anemias se convierte en un problema de salud pública, es de gran importancia la detección temprana de las deficiencias de Hierro con el fin de realizar tratamiento oportuno, adicionalmente

a estas alteraciones es importante identificar el rasgo y/o enfermedad de Hb S y talasemias. Esta investigación brinda apoyo para realizar campañas de consejería genética y de prevención a nivel de la población por medio de educación a la comunidad en el servicio asistencial.

Expertos de la OMS han reiterado la necesidad de realizar investigaciones que proporcionen información precisa acerca de la prevalencia de la anemia ferropénica. Con la información obtenida, la OMS, el Fondo de Naciones Unidas para la Infancia y el Plan Nacional de Alimentación y Nutrición señalan la necesidad de realizar programas de intervención para controlar las deficiencias de hierro

El valor de ferritina sérica permite detectar el inicio de una anemia ferropénica, aún con valores de hemoglobina dentro de rangos normales. En muchos sectores de la población, no hay recursos para aplicar pruebas de laboratorio que permitan diagnósticos confiables de anemias, en pro de “optimizar” recursos, suministran hierro en forma indiscriminada, en un intento por aumentar la concentración de hemoglobina, desconociendo las consecuencias negativas que pueden desencadenar y el origen real de la anemia, ya que si hay un diagnóstico equivocado con talasemias o rasgo talasémico, el uso indiscriminado de sulfato ferroso puede desarrollar rápidamente cardiomiopatía y hepatotoxicidad por acumulación de hierro

Por otra parte, es importante destacar que el grupo investigador, en las diferentes etapas desarrolladas, ha generado intervención directa e inmediata en las comunidades estudiadas, a través de los resultados obtenidos en los que ha detectado un porcentaje significativo de anemias ferropénicas, deficiencias subclínicas de hierro, y/o rasgo -enfermedad de Hemoglobina S,C, sin diagnóstico ni tratamiento, exhortando de esta forma a las instituciones educativas y las entidades prestadoras del servicio de salud, hacia la formulación de estrategias de promoción y pre-

vención en salud, especialmente las referidas al estado anémico carencial descubriendo.

Por ello, para este estudio, adicionalmente se tuvieron en cuenta las consideraciones aportadas por la comunidad científica en el contexto de las alteraciones de la molécula de Hemoglobina. Las personas con rasgo falciforme que son portadoras de la hemoglobina S, son asintomáticas, las cifras y tanto la morfología sanguínea, como el desarrollo físico, la actividad y la longevidad de las personas son normales; sin embargo, frente a circunstancias de anoxia, puede presentar ocasionalmente complicaciones.

Teniendo en cuenta la situación de orden público, la pobreza y falta de oportunidades en zonas rurales, se ha incrementado la migración de población afrodescendiente a las ciudades y, en especial a Bogotá, ciudad ubicada a una altura de 2600 msnm, lo que conlleva a una mayor agresividad en la sintomatología de las personas portadoras y homocigotas de hemoglobinopatías, es importante su diagnóstico oportuno y adecuado donde no se confunda anemias o deficiencias subclínicas de hierro con rasgo talasémico.

La Hemoglobina S se produce por la sustitución del ácido glutámico por valina en la posición 6 de la cadena β de la hemoglobina y al descender la PO₂, la molécula de hemoglobina se cristaliza, deformando los hematíes, tomando forma falciforme y rigidez, esto, produce un grupo de síntomas conocidos como crisis celular de la hoz. El riesgo de padecer una crisis, aumenta con cualquier actividad que estimule la necesidad del cuerpo para recibir oxígeno, como el enfermarse, el estrés físico y las altitudes elevadas; de ésta manera los factores de riesgo, incluyen a su vez:

Factores Genéticos: los niños que heredan copias del gen defectuoso de ambos padres padecerán de la anemia falciforme. Los niños que heredan una copia del gen no presentarán esta enfermedad, pero portarán este rasgo.

- Raza: negra procedente del sub-Sahara.

- Etnicidad: griegos, italianos y personas de algunas partes de la India y de la Península Arábiga.

El proyecto pretende, desde la óptica de salud pública a nivel de comunidad afrodescendiente migratoria de la Universidad, identificar la presencia del estado anémico carencial, posiblemente combinado con el síndrome hemolítico asociado a alteraciones de la cadena de hemoglobina, tales como hemoglobina S, hemoglobina C y talasemias con el fin de concientizar acerca de la importancia de un diagnóstico apropiado, para el mejor manejo de estas alteraciones tanto a nivel clínico como de consejería genética, en pro de mejorar la calidad de vida y reducir costos en tratamientos, así como dar a conocer los resultados a las entidades competentes, puesto que: en un futuro cercano se cambiará el perfil epidemiológico a nivel Nacional, teniendo en cuenta las condiciones de desplazamiento de estas poblaciones.

Diferencias entre anemia ferropénica y Beta talasemia

La anemia ferropénica y las talasemias clínicamente presentan parámetros similares como lo son los glóbulos rojos microcíticos e hipocrómicos, estos dos trastornos de la hemoglobina son las dos causas más comunes de anemia, tanto en niños como en adultos; por ello, es importante determinar si la anemia se da por una disminución de hierro sérico o por alteración genética. Por esta razón, es de importancia realizar los exámenes necesarios para evitar confusiones entre estos dos tipos de anemias, los más importantes son la prueba de ferritina plasmática y los niveles de HbA2 y HbF, presentándose así sospecha de rasgo de beta talasemia, cuando la ferritina plasmática es mayor a $15 \mu\text{g} / \text{L}$ y HbA2

mayor a 3.5%, mientras que los niveles disminuidos de ferritina plasmática pueden ser sospecha de anemia ferropénica que se define como ferritina menor a $15 \mu\text{g/l}$ y HbA2 menor de 3.5.

La importancia de diagnosticar el rasgo talasémico radica en que muchas veces las poblaciones predispuestas a este tipo de enfermedad, tienden a contraer matrimonio entre personas de la misma población o comunidad, lo cual puede ser riesgoso en caso de que lleguen a tener hijos, ya que ambos pueden ser portadores de rasgo de talasemia, lo cual causaría talasemia mayor en el individuo; queda así claro, que la detección de rasgo de beta talasemia depende de la medición precisa de HbA2 y HbF, no obstante, se han realizado estudios en donde se presentan los dos trastornos de hemoglobina como se describe en el siguiente apartado.

Coexistencia de anemia ferropénica y síndromes de talasemias

La literatura ha considerado que la diferencia entre estas dos anemias son los niveles de hierro, los cuales disminuyen en anemia ferropénica y no en síndromes talasémico; sin embargo, en los últimos años se han realizado estudios que demuestran una más marcada disminución de hemoglobina cuando hay deficiencia de hierro y, al tiempo existe rasgo de Beta talasemia, lo que provoca una coexistencia entre anemia ferropénica y Beta talasemia. Esto se da debido a la falta de nutrientes hematopoyéticos y además por el desequilibrio en la síntesis de cadenas de globina.

Materiales y métodos

Se categoriza dentro del tipo de investigación descriptiva, no experimental, no probabilística a conveniencia, de tipo transversal. Así mismo, es importante señalar que según la resolución 008430 de 1993, el presente estudio se clasifica en la categoría de investigaciones con riesgo mínimo.

Prevía sensibilización a la comunidad respecto a los objetivos y el desarrollo del proyecto y por ende, a la importancia de una apropiada toma de muestra, se procede a la firma del consentimiento informado, en el cual se aclara la privacidad de los participantes, la confidencialidad de los datos obtenidos y los posibles riesgos y beneficios. Se explica a la comunidad, cada uno de los requisitos que deben cumplir las muestras recolectadas para obtener resultados confiables y de calidad. El proyecto es avalado por el comité de Investigaciones de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. El cuadro hemático y el frotis de sangre periférico se realizó en el laboratorio de hematología de la Universidad, la ferritina y electroforesis de hemoglobina alcalina y ácida en un laboratorio de referencia. Los resultados son analizados y reportados a los estudiantes participantes en el estudio, quienes a su vez los canalizan a la entidad prestadora de salud a las que pertenecen los participantes, para el tratamiento y consejería adecuada donde se clarifican las dudas acerca de la enfermedad, dependiendo de cada situación.

Diseño muestral: Muestreo no probabilístico a conveniencia.

Universo: Estudiantes afrodescendientes de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Población accesible: La población objeto de estudio de esta investigación son hombres y mujeres adultas Afrodescendientes.

Muestra: La muestra sanguínea corresponde a 17 participantes que cumplan los siguientes criterios de inclusión: estudiantes mujeres y hombres entre 18 y 24 años de la Universidad

Colegio Mayor de Cundinamarca que hayan autorizado su participación en el estudio, firmando el consentimiento informado, la investigación no requiere cálculo muestral.

Criterio de exclusión: Personas que estén ingiriendo suplementos de Hierro, mujeres con periodos menstruales muy prolongados y, mujeres embarazadas.

Hemograma automatizado: Se tomaron 17 muestras de sangre anticoagulada, recolectada por flebotomía en tubo tapa lila con EDTA. Las cuales se procesaron en el equipo de hematología automatizado Mildray BC 3000 Plus.

Estudio de sangre periférico: Se realizaron 17 extendidos, de las muestras tomadas para el cuadro hemático, en lámina portaobjetos con una gota de sangre, se deja secar y se colorea empleando la coloración de Wright. Posteriormente, se evaluó por microscopía óptica la morfología y la distribución de las células sanguíneas a la luz del protocolo estandarizado.

Ferritina sérica: Se tomaron 17 muestras en tubos con gel tapa amarilla a través de flebotomía. Las muestras se centrifugaron por 15 minutos a 2500 revoluciones por minuto y se evaluó la presencia y cantidad de dicha proteína en suero por el método de quimioluminiscencia, cuyo valor de referencia es: Mujeres: 17 a 60 años: 13 a 150 ng/ml y hombres de 18 a 60 años: 30 a 400 ng/ml.

Electroforesis de hemoglobina

Se tomaron 17 muestras de sangre anticoagulada recolectada por flebotomía en tubo tapa lila con EDTA. Se realizó electroforesis de hemoglobina alcalina y ácida.

Electroforesis: es la migración de partículas cargadas disueltas en una solución buffer dentro de un campo eléctrico. Así la electroforesis de hemoglobina consiste en la separación de los ti-

pos de proteína que tienen las personas gracias a la variabilidad en el peso molecular.

Electroforesis alcalina: la electroforesis en acetato de celulosa o agarosa a pH alcalino constituye una de las pruebas más utilizadas en el diagnóstico primario de hemoglobinopatía tipo S, puede diferenciar claramente las bandas de migración para hemoglobina A, luego F, seguido grupo S, D, G, y por último el grupo A2, C, E, O.

Electroforesis ácida: usa como medio el agar citrato con un pH ácido, se puede utilizar para la confirmación de los resultados en la electroforesis alcalina, también sirve para la identificación de las variantes menores, ya que la separación de la hemoglobina se da en el siguiente orden: primero el tipo F, seguida del grupo A, D, G, E, O y por último la S.

Es muy importante destacar que después del análisis de estas muestras, se realizó todo el proceso de inactivación y eliminación del material de riesgo biológico en el lugar de procesamiento.

Resultados

Métodos estadísticos

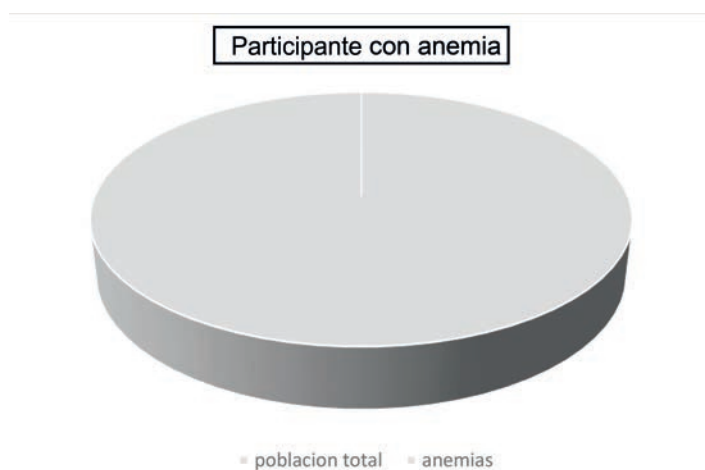
Para el método estadístico se digitó y depuró en Microsoft Excel versión 2007. Las variables cuantitativas se analizaron con medidas de tendencia central como el promedio y se describieron por medio de frecuencias absolutas y porcentuales.

Gráfica 1



La población participante en el estudio fueron 17 estudiantes, 2 hombre y 15 mujeres.

Gráfica 2



De los 16 participantes hombres y mujeres ninguno presentó anemia.

Gráfica 3



En cuanto a los valores de ferritina, el valor fue normal en los dos participantes masculinos.

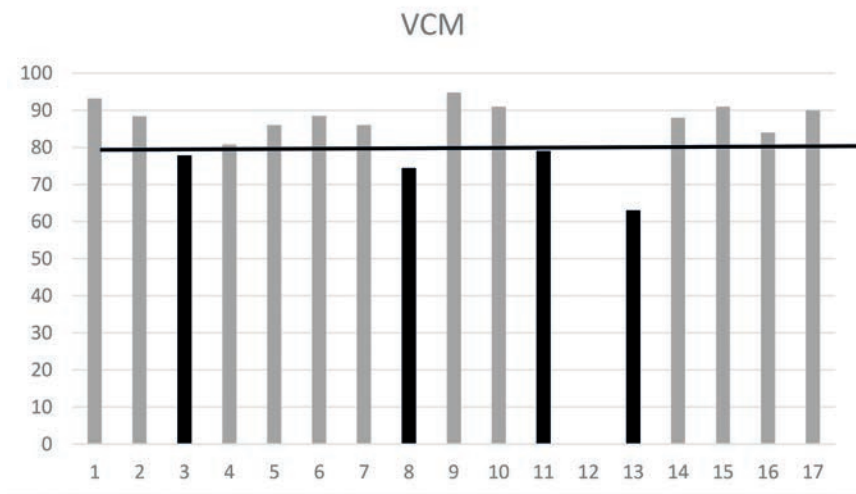
Gráfica 4



De las 15 mujeres, 3 tiene ferritina baja que corresponde al 20%; y 12 presentan ferritina normal, que corresponde al 80%.

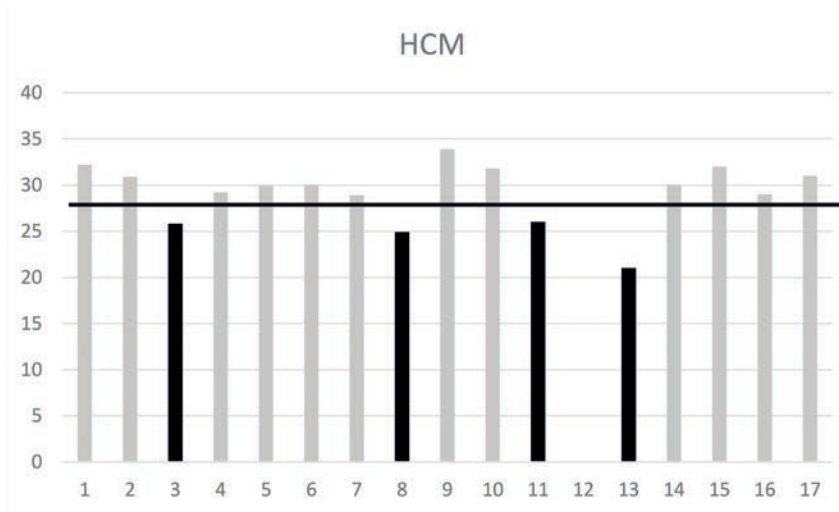
Al procesar los hemogramas, uno presentó coágulo, por esta razón se analizarán los resultados de 16 muestras.

Gráfica 5



De los 17 participantes, 4 presentan VCM bajo, corresponde al 25%, mientras que los 12 restantes que equivalen al 75% tienen VCM normal.

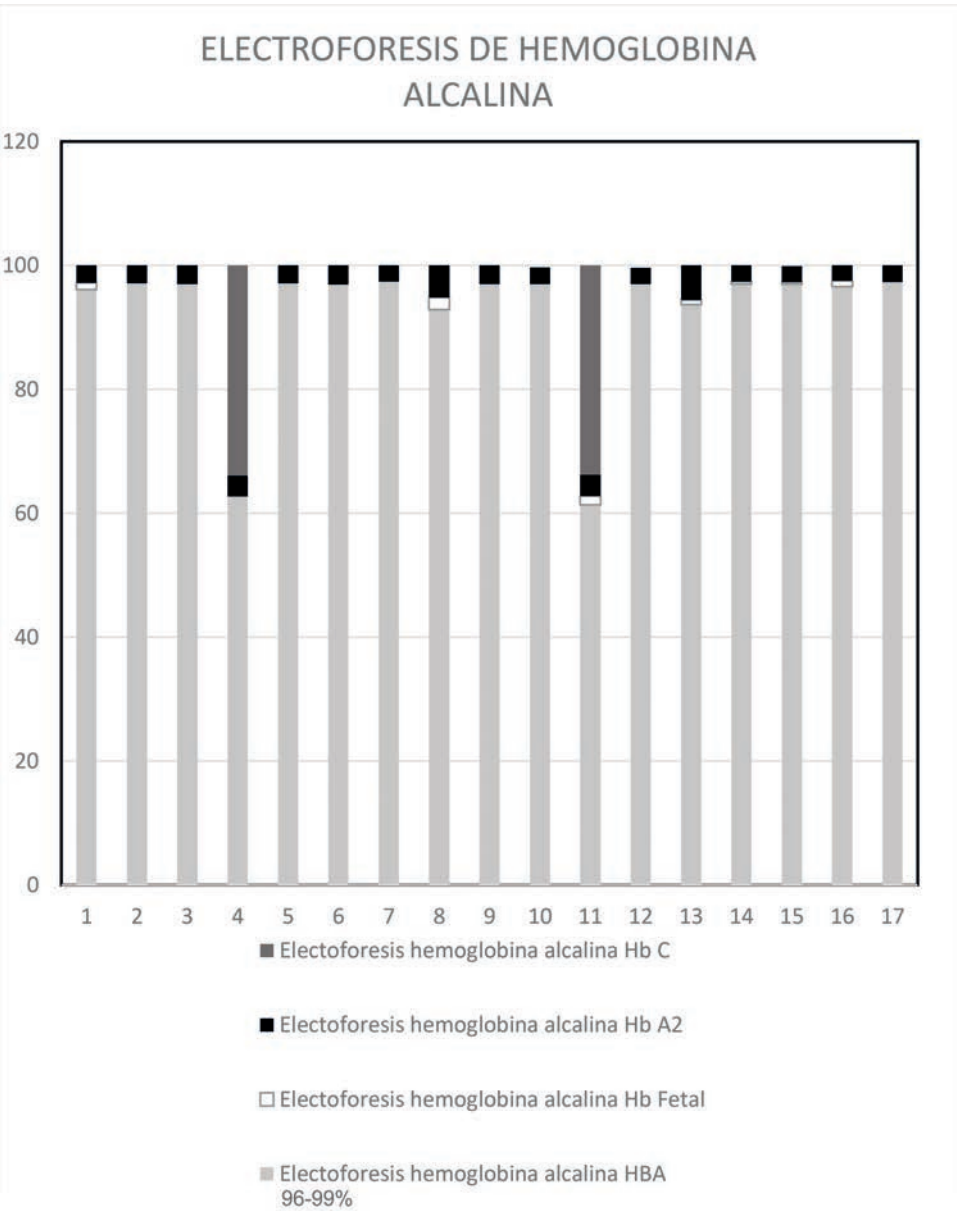
Gráfica 6



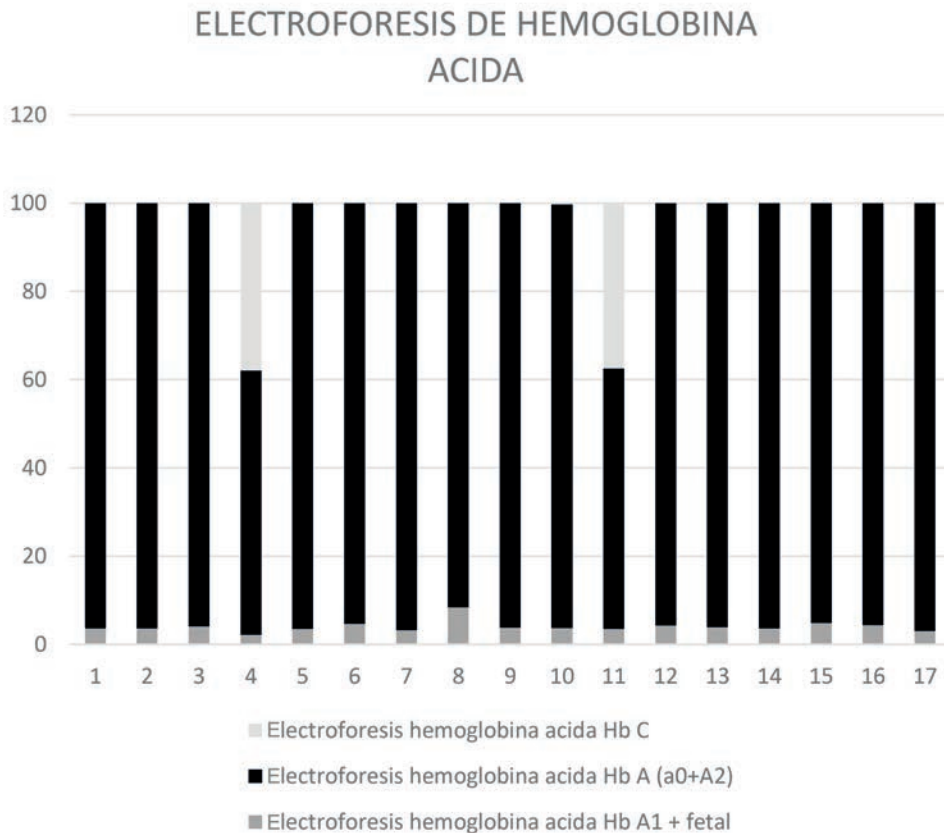
De los 17 participantes, 4 presentan HCM bajo, corresponde al 25%, mientras que los 12 restantes que equivalen al 75% tienen HCM normal.

Los 4 participantes con VCM y HCM bajos, se correlacionan con glóbulos rojos microcíticos hipocrómicos observados en el frotis de sangre periférica.

Gráfica 7



Gráfica 8



En las gráficas 7 y 8, se observa que, de las 17 electroforesis de hemoglobina alcalinas y ácidas realizadas, que los participantes No 4 y No 11 presentaron rasgo de hemoglobina C, sin embargo, el No 11 tiene VCM y HCM bajos, además de hemoglobina A2 y hemoglobina Fetal aumentados, sugiriendo además de la presencia de Hemoglobina C, un rasgo de β talasemia.

Los participantes No 8 y 13, presentan una electroforesis de hemoglobina con aumento de hemoglobina A2 y Fetal, con VCM y

HCM disminuida, resultados que se correlacionan con rasgo de β talasemia.

Discusión

Las hemoglobinopatías estructurales y las talasemias constituyen un problema de salud pública, en algunas zonas geográficas se ha comprobado la presencia de variedad genética, de ahí la importancia de estudiarlas y diferenciarlas de forma apropiada, teniendo en cuenta la población afrodescendiente en Colombia y de manera especial la de los estudiantes afrodescendientes de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

En estudios realizados, por el grupo Eritrón, en poblaciones afrodescendientes, se ha evidenciado la variabilidad en la presentación de estas alteraciones, tanto homocigotos, así como en la mayoría heterocigoto, con rasgos HbS, HbC y β talasemias.

Lo cual se correlaciona con los datos aportados por el DANE, al mencionar que en las regiones tropicales del continente americano es muy variable la sintomatología en cuanto a factores genéticos, geográficos, ecológicos y culturales, todo esto determina la variabilidad, incidencia, prevalencia y forma de presentación de la enfermedad.

En los estudios de hemoglobinopatías realizados en Colombia se ha demostrado que el fenotipo más frecuente es el de la *hemoglobina S* en su forma heterocigota (AS).

Las condiciones socioeconómicas de poblaciones de bajos ingresos y la ausencia de políticas de tamizaje neonatal, no permiten realizar un diagnóstico oportuno y, al no presentar sintomatología, pueden pasar desapercibido, pero al haber cambios bruscos en las condiciones fisiológicas desencadenan hemólisis.

Las regiones donde se encuentra la mayor población afrodescendiente de Colombia son Chocó, San Andrés, Bolívar, Valle del Cauca y Cauca, lo que podría indicar mayor prevalencia de las alteraciones de la hemoglobina. La frecuencia del gen falciforme varía entre el 7,7% y el 14,7% en la población de raza negra, principalmente en el departamento del Chocó.

Actualmente en Colombia existe migración de venezolanos, más el movimiento interno que ha ocurrido por el conflicto armado hace que varíe las incidencias de alteraciones genéticas en las regiones de Colombia, especialmente en las capitales, en la mayoría de casos en condiciones económicas desfavorables, lo que conlleva a la presencia de anemias carenciales y con las alteraciones genéticas en la molécula de hemoglobina.

Conclusiones

En la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca existe alrededor de 150 estudiantes afrodescendientes provenientes de diversas regiones del país, para el estudio se presentaron 17, de cuales 7, que corresponde al 41.2%, presentaron alteraciones de hemoglobina, sean adquiridas o hereditarias. De las 14 personas que reportaron su lugar de origen, el 57.2% (8/14) son de la región pacífica; el 7.1 (1/14) de la región Atlántica; y de la región Andina, el 35.7% (5/14).

En cuanto a la ferritina, proteína que indica el estado de los depósitos de hierro, en los hombres están normales, mientras en las mujeres, el 20 % (3/15) presentan ferritina baja. Vale la pena resaltar que ningún participante presentó anemia, pero la disminución de la ferritina sugiere una deficiencia subclínica de hierro que puede llevar a una anemia ferropénica.

En cuanto a alteraciones genéticas en la molécula de hemoglobina, se encontró rasgo de hemoglobina C en los participantes 4 y 11; rasgo de beta talasemia en los participantes 8, 11 y 13. El participante No 11 es sugestivo de presentar Hemoglobina C y rasgo de β talasemia por el aumento de la hemoglobina A2 y Hemoglobina Fetal.

Si bien se invitó, a través del Medio Universitario, a los estudiantes afrodescendientes de la Universidad para su participación voluntaria en la investigación, la respuesta no fue afirmativa.

Con los resultados de esta investigación, sería importante hacer un estudio de la población estudiantil donde se determine las deficiencias nutricionales y genéticas que puedan existir que afectan el nivel de concentración y aprendizaje.

Referencias bibliográficas

Adorno, E. V. et al. (2009). *Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil*. *Cad. Saúde Pública* [online], 21 (1), 292-298. Publicado en <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2005000100032>.

Agudelo, G., Cardona, O., Posada, M., Montoya, M., Ocampo, M. & Marín, C. et al. (2003). Prevalencia de anemia ferropénica en escolares y adolescentes, Medellín, Colombia, 1999, *Pan Am J Public Health* 13 (6), 376-86.

Aseem, K. T. (2009). Comparing prevalence of Iron Deficiency Anemia and Beta Thalassemia Trait in microcytic and non-microcytic blood donors: suggested algorithm for donor screening. *Asian J Transfus*, 3 (99).

Castillo, M., Mora, A., Donato, K., Pérez, F. & Tapiero, M. (2010). Identification of iron deficiency risk by index soluble transferrin receptor-log ferritin in African descent men living at San Basilio de

Palenque, Cartagena de Indias, T. and C. D, Bolívar, Colombia. *NOVA*, 8 (13), 54-62.

Castillo, M., Mora, A. & Oliveros, A. (2014). Association of thalassemia and trait, sickle cell and trait and haemoglobin c with iron-deficiency anemia in colombians of african descent. *Journal of Sciences*, (8), 11.

Correa, A., Palacio J., Sandro J. & Díaz, M. R. (2009). *Desplazamiento interno forzado: Restablecimiento urbano e identidad social*. Barranquilla: Universidad del Norte.

DANE (2005). *Poblacion indigena, rom y afrocolombiana*. Disponible en <http://www.dane.gov.co/files/censo2005/etnia/sys/etnias.pdf>

DANE (21 de marzo de 2014). Pobreza monetaria y multidimensional 2013. *Boletín de prensa*.

Durán, C. I., Morales, O. I., Echeverri, S. J. & Isaza, M. (2012). Haplotipos del gen de la globina beta en portadores de hemoglobina S en Colombia. *Biomédica*, 32 (1), 103-111.

Ministerio de Salud República de Colombia (1993). *Resolución 008430 de 1993. Sobre las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud*. Bogotá: Ministerio de Salud República de Colombia.

Modell, B. & Darlison, M. (2008). Epidemiología mundial de las hemoglobinopatías e indicadores de los servicios correspondientes. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud*, 86 (6), 480-487.

Pujadas R., X. & Viñals R., L. L. (2016). Enfermedad de células falciformes en el embarazo. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 42 (2), 239-253.

Rimon, E., Levy, S., Sapir, A., Gelzer, G., Peled, R. & Engas, D. *et al.* (2002). Diagnosis of iron deficiency anemia in the elderly by transferrin receptor-ferritin index. *Arch Intern Med*, 162, 445-449.

Rodríguez, W., Sáenz, G. & Chaves, M. (1998). Haplotipos de la hemoglobina S: importancia epidemiológica, antropológica y clínica. *Rev Panam Salud Publica*, 3 (1), 1-8.

Disponible en http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_art-text&pid=S1020-49891998000100001&lng=en

Satizábal, J., Neuta, P., Muñoz, J. & Somoyar, P. (2004). Incidencia de Hemoglobinopatías. *Neonatos de Cali*. Salud Uninorte, 18, 71-72.

Tarazi, I. S., Sirdah, M. M., El Jead, H. & Al Haddad, R. M. (2008). Does cigarette smoking affect the diagnostic reliability of hemoglobin $\alpha_2\delta_2$ (HbA₂)? *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 22 (2), 119-122.

Usman, M., Moinuddin, M. & Ahmed, S. A. (2011). Role of iron deficiency anemia in the propagation of beta thalassemia gene. *Korean J. Hematol*, 46 (1), 41-44.

Capítulo 2

Caracterización social que incide en la salud de las familias rurales del municipio de Guayabetal

Yamile Edith Borda Pérez*

Clemencia del Carmen Gaitán Didier**

Las características de las familias rurales se han convertido en un real reflejo de las políticas de salud, especialmente las que habitan el área rural, sus particularidades y consecuentemente, las acciones para formular e implementar modelos oportunos de atención, que respondan a sus necesidades, a través del desarrollo de estudios desde el análisis de la situación en salud, para la comprensión de elementos tales como el territorio y, establecer su carácter multidimensional, como las representaciones, construcciones y apropiación de las personas que allí desarrollan sus actividades cotidianas, así como las situaciones históricas que configuran las comunidades de la misma forma que lo hacen con el territorio. Es un estudio cuantitativo, de carácter exploratorio y descriptivo. La

* Magister en desarrollo sostenible y medio ambiente, Universidad de Manizales. Docente ocasional Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Capítulo producto de la investigación: Caracterización de las familias residentes en el municipio de Guayabetal-Cundinamarca, en el marco de la metodología de análisis de situación en salud 2018. Grupo de investigación sociedad, cultura, desarrollo comunitario y familia SOCUDECOFA. Correo electrónico: yborda@unicolmayor.edu.co.

** Magister en Educación, Universidad de la Sabana. Docente Investigadora. Grupo: Sociedad, Cultura, Desarrollo Comunitario y Familia (SOCUDECOFA). Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia. Correo electrónico: clemengaitan@gmail.com.

vinculación de la población al sistema de salud permite reforzar las dimensiones biopsicosociales relacionadas con la atención primaria, como un trabajo multidimensional. Se debe continuar realizando investigación sobre la experiencia de las gestoras en salud en la ruralidad.

Los antecedentes de la investigación permiten dilucidar las aproximaciones teóricas y prácticas que se abordaron de los Determinantes Sociales de la Salud —DSS—, en el contexto internacional, latinoamericano y nacional, desde los ejercicios académicos y la vinculación de estos con las políticas en salud, que se han fundamentado en los mismos, culminando con los aportes en relación con las familias rurales en el contexto nacional.

La OMS en la asamblea del 2004 lanza la directriz de trabajar sobre los determinantes sociales de la salud, lo cual se convierte en estrategia que promueve la investigación transdisciplinar en las causas últimas de los problemas de salud y generar el tratamiento con énfasis en la atención primaria y la prevención; posterior a ello, Solar e Irwin (citados por Villar, 2007) proponen a la Comisión de los Determinantes Sociales de la Salud de la OMS que el propósito de los DSS es: “establecer los elementos de la estructura social que condicionan la posición que las personas alcanzan en la sociedad y que tiene un efecto directo en la distribución de los problemas o de los factores protectores de la salud”. De esta forma, se analizan las diferencias en el estado de salud de las personas que son evitables y son consecuencia directa o indirecta de la pobreza estructural; en ese sentido, los autores plantean tres tipos de factores, que determinan la exposición a la vulneración en los Determinantes sociales de la salud: el primero de ellos, vinculado con los factores de vivencias materiales (trabajo, vivienda, alimentación, saneamiento, etc.); el segundo factor, se relaciona con lo psicosocial y conductual de las personas; y por último, el factor que se asocia a lo biológico; sumado a lo anterior y como factor que tiene gran relevancia, se encuentra el mismo sistema

de salud al cual las personas acuden, ya que se vinculan directamente a construcciones políticas y económicas.

En este mismo orden y dirección, Álvarez (2009) aborda tres perspectivas teóricas que realizan acercamientos para explicar el origen de las inequidades en salud, entre los grupos sociales. La primera perspectiva, denominada teoría psico-social, afirma que la experiencia de vivir en sociedades desiguales fuerza a la persona a compararse en relación a otras, lo cual causa afectaciones en su autopercepción y consecuentemente en su sistema neuroendocrino, lo que se refleja en carentes estados de salud y la ruptura con sus redes sociales.

La segunda perspectiva, denominada teoría de la producción social de la enfermedad, se basa, en el materialismo-estructuralista en el que el escaso ingreso económico de las personas y grupos sociales conlleva a la falta de recursos para superar los factores que afectan la salud y producen enfermedad, tal como la infraestructura física de las viviendas, el acceso a medicinas y revisión médica o la mala nutrición. Y, por último, la perspectiva eco-social, en ella se analiza cómo el contexto social y medio ambiental interactúa con la biología, dando como resultado la manifestación de los contextos donde se desarrollan los sujetos en sus propios cuerpos y reproducen el contexto donde se ubican.

De otro modo, y a fin de establecer puntos de análisis para el abordaje de los Determinantes Sociales en Salud, es importante retomar las declaraciones realizadas en el informe, del año 2000, sobre la salud en el mundo, realizado por la OMS, este resulta importante en tanto brinda un panorama centrado en el modelo económico y los beneficios que la salud y los sistemas de salud puedan brindar. En dicho informe se realizan varias recomendaciones, que giran en torno al aprovechamiento y maximización de los recursos económicos, tales como la disminución de los sistemas de salud subsidiados, centrar la atención o los servicios pre-pagados de atención y la importancia que el sector privado

tiene en el sector salud. De lo anterior, resulta claro el enfoque que la OMS propuso para tal momento y, que dichas directrices son propuestas desde un enfoque administrativo y económico.

La pobreza, la cual se ve fuertemente reflejada en el impacto de las políticas neoliberales en la distribución de los recursos dentro y entre las naciones; el género, entendiendo este como la determinación del lugar que ocupan las personas en una sociedad y, el acceso que tienen las mismas a determinados servicios y garantía de derechos. La exclusión social, en la cual la nueva faceta de globalización desarrollada por el neoliberalismo da paso a la creación de nuevas clases sociales cuya base es la inequidad; por último, la guerra y militarización, cuya determinante es la invasión de países soberanos y consigo la destrucción masiva de las mínimas condiciones de vida de las personas.

En relación con las ideas expuestas, en Colombia el abordaje de los DSS se ha visto teóricamente reflejado en las leyes y la jurisprudencia competente a la salud. De tal forma y siguiendo lo expuesto por Carmona y Parra (2015), entre los retos más significativos que el país afronta es poder disponer de manera equitativa del acceso a servicios de sus habitantes, haciendo especial énfasis en un enfoque territorial que reconozca las diferencias que se presentan en los diferentes contextos de la geografía colombiana y que configuran la cotidianidad y el desarrollo de esta (Bolaños *et al.*, 2011), citados en Carmona y Parra (2015) afirman que para dar cumplimiento a dicho reto es importante desde la comprensión de la salud como “el resultado coherente y armónico de la interacción entre el individuo, la sociedad y las condiciones en las que su vida tiene lugar”.

A razón de lo expuesto, el país inicia con la formulación y reformulación de actos administrativos y políticas públicas que le permitan operacionalizar su enfoque de DSS de todos sus habitantes, para tal fin se crea mediante la Ley 1438 del año 2011, el Plan Decenal de Salud Pública 2012-2021, el cual tiene como línea

transversal la estrategia de Atención Primaria en salud, para lograr incidir en los DSS desde una intervención participativa e intersectorial. Dicha estrategia de atención primaria fue implementada en el país luego de aproximadamente tres décadas de su promulgación en Alma Ata y tiene como base la cooperación entre el Estado, la sociedad y las instituciones para abordar la salud desde el enfoque de promoción y prevención garantizando a la población un aseguramiento total.

Pese a la estrategia clara y el horizonte integral de atención que se plantean en el Plan Decenal, la operacionalización no se ve reflejada en su plenitud, debido a un descenso en los DSS y el trasfondo económico que la salud presenta en el país actualmente. Consecuentemente, los autores afirman las condiciones estructurales que históricamente se han presenciado en el país y se convierten en barreras para llevar a cabo las propuestas mencionadas, así el peso de las condiciones económicas, geográficas, demográficas, sociales y políticas deben repensarse en torno a las realidades múltiples y dinámicas de la sociedad.

Situación problema

En el municipio de Guayabetal se referencia la falta de oportunidades y de mejores condiciones socio-económico educativas y de acceso a servicios en salud presentes en el área rural. Así mismo, en el área urbana se observa un 8% de desplazamiento a municipios alternos por la negociación y compra de predios para la construcción de la doble calzada Bogotá – Villavicencio y déficit de vivienda urbana para reubicación (Alcaldía de Guayabetal, 2015). Lo cual presenta al municipio el eminente reto de formular e implementar acciones que promuevan el desarrollo y bienestar de sus habitantes.

La problemática de la población, ha sido la indiferencia de algunos sectores nacionales, la constante violación de los derechos humanos generados por actos de violencia, en el abandono de su lugar de hábitat, hecho que en ocasiones ha causado desintegración familiar, afectando las relaciones interpersonales e intrafamiliares y, originado conflictos entre los miembros, lo que ha obstaculizado el desarrollo y organización de la comunidad desplazada (Alcaldía de Guayabetal, 2015).

En el Trabajo Social, analizar las condiciones de salud y sociales del entorno de la población residente en el municipio, permitió identificar los factores que inciden en el estado de salud, a partir de la descripción del contexto territorial, demográfico, socioeconómico, no solo en términos de sobrevivencia física (alimentación, salud, vivienda), sino también en términos de desarrollo de potencialidades que les permita insertarse provechosa y productivamente a la sociedad; incidiendo en procesos de sensibilización de la comunidad, participación comunitaria para la construcción de programas y proyectos que mejoren el entorno y la salud integral de las familias del municipio.

Referente teórico

Territorio y caracterización territorial

Realizar estudios desde el análisis de la situación en salud de las familias rurales, plantea comprender elementos tales como el territorio, de este es importante establecer su carácter multidimensional, pues no solo concierne al espacio geográfico o físico en el cual se habita, también está integrado por las representaciones, construcciones y apropiación de las personas que allí desarrollan

sus actividades cotidianas, así como las situaciones históricas que configuran las comunidades de igual forma que lo hacen con el territorio; la anterior idea responde a la relación determinante y existente entre el territorio y la población, en la que converge una afectación mutua.

Retomando a Sosa “el territorio no es solamente una porción de tierra delimitada con su complejidad biofísica (relieve, condiciones ambientales, biodiversidad etc.). Es, sobre todo, un espacio construido socialmente, es decir, histórica, económica, social cultural y políticamente” (2012, 7). De tal forma, el territorio es cambiante por sus estructuras física y social, porque es allí donde lo social, ecológico y geográfico adquieren relevancia y mutuamente se transforman.

De acuerdo con lo anterior, en el territorio se observan integraciones, relaciones e interacciones, producto de los elementos complejos que allí convergen. Por tanto, el territorio será entendido, de manera inicial, como “las relaciones entre los seres humanos y los demás elementos del mismo que lo convierten en un espacio de desarrollo físico y social de manera subjetiva e intersubjetiva; es un espacio estructurado y organizado por medio de relaciones entre seres humanos y los demás elementos que contiene” (Sosa, 2012).

Entender los elementos constitutivos del territorio demanda el abordaje holístico de los mismos, debido a que el territorio cuenta con una base constituida por el espacio geográfico o por delimitaciones políticas-geográficas, en el cual se encuentran recursos naturales, una geografía que determina su configuración y, una dinámica externa que confluye en su funcionamiento interno.

Para puntualizar la comprensión del territorio, se retoma la conclusión de Sosa, quien propone el territorio como una “Compleja red de contenidos y formas, de condicionamientos objetivos y subjetivos interrelacionados que consciente o inconscientemen-

te en los diversos actores sociales estructuran procesos, dinámicas y prácticas sociales” (2012, 116-117).

A efectos de las aproximaciones anteriores y, con el fin de centrar en los requerimientos y objetivos de la investigación, la caracterización territorial comprende la identificación del espacio geográfico y, las relaciones que se establecen entre los diferentes elementos que la conforman. De tal forma, siguiendo la idea del diagnóstico territorial, “la caracterización del mismo podría ser definida como el estado situacional que describe de manera diagnóstica dicho territorio” (2012). Esta caracterización, deberá comprender aspectos tales como: la delimitación y localización del territorio, inventario de elementos físicos, caracterización en términos poblacionales, actividades productivas, accesibilidad, condiciones de riesgo y su vulnerabilidad.

Expuesto lo anterior, es importante retomar aspectos de la caracterización territorial que se vinculan con el ambiente biótico y las relaciones funcionales entre este y la población que en el territorio desarrolla su dinámica; a efectos de los mencionado, se retomaran cinco aspectos de dicha caracterización: geográfico, político, cultural, histórico y económico.

El acceso geográfico y económico a los servicios de salud: esta variable abarca el tiempo que emplean las personas en movilizarse de su residencia al lugar donde reciben el servicio de salud y los costos que dicho servicio acarrea; de igual forma, el tiempo empleado por los servicios de salud para dar respuesta oportuna a los llamados de emergencia de las personas en un determinado territorio.

Determinantes Sociales de la Salud

Como se expuso en los antecedentes, estos son las condiciones sociales que influyen sobre la probabilidad que tienen las personas de estar sanas, tales condiciones son: la pobreza, la inseguridad alimentaria, la deserción escolar, las condiciones de vivienda, el acceso a servicios y la escasa calificación laboral. Estos son los aspectos sociales, económicos, políticos, culturales y medioambientales que influyen en la salud de las personas.

En consideración con lo anterior, el modelo de Determinantes Sociales de la Salud, adoptado en la presente investigación es el planteado por la OMS (2011), el cual expresa la necesidad de actuar en todos los sectores para promover el bienestar. Los componentes de los DSS se expresan en dos determinantes: los primeros, son de tipo estructural, de inequidades en salud y son los que generan una estratificación en la sociedad a causa de la distribución de ingresos o factores como género, etnia o discapacidad y, las estructuras políticas que gobiernan reforzando las desigualdades de poder.

Los segundos determinantes, se denominan intermedios de salud, en estos se observa como los determinantes estructurales no ejercen acción directa sobre la salud, sino que lo hacen a través de los intermedios, se compone de condiciones de vida y trabajo, disponibilidad de alimentos, conductas y factores biológicos y psicosociales.

Con el fin de exponer un concepto concreto se aborda el expuesto por la OMS (2005) en donde, los Determinantes Sociales de la Salud, son circunstancias en que las personas nacen, crecen, viven, trabajan y envejecen, incluido el sistema de salud, las cuales son el resultado de la distribución del dinero, el poder y los recursos en los ámbitos mundial, nacional y local, que dependen de las políticas adoptadas en materia de salud. Este concepto se

aborda de manera fundamental, ya que a través de él se devela el contexto socio-político que genera inequidad y desigualdad en la distribución de recursos, servicios, acceso y goce a derechos, así como la propia dinámica del poder.

Atención primaria en salud

La atención primaria en salud, desde el modelo de salud familiar y comunitario, está basada en la estrategia primaria en salud. Tal como lo expone la OMS en la Declaración de Alma Ata en 1998 “la asistencia sanitaria esencial basada en métodos, tecnologías prácticas, científicamente fundamentada y socialmente aceptada, puesta al alcance de todas las personas y familias de la comunidad, mediante su plena participación y a un costo que la comunidad y el país puedan soportar en todas las etapas de su desarrollo, con espíritu de autorresponsabilidad y autodeterminación”. La anterior afirmación, compromete un modelo de amplio cubrimiento que expone, en su base, la promoción de la salud y prevención de las enfermedades con el ánimo de abordar la raíz y no centrarse en la atención biologicista.

Retomando el Marco Conceptual del Modelo de Salud Familiar y Comunitaria desarrollado por el Ministerio de Salud de Nicaragua (2007) y en concordancia con sus planteamientos, se puede retomar que la atención primaria se centra en los determinantes del medio social y físico donde se desarrolla la cotidianidad de las personas, sobrepasando el enfoque de enfermedades. Este modelo aborda cuatro principios fundamentales: el primero de ellos, se vincula con la accesibilidad a los servicios de salud de forma geográfica, cultural, de género y económica que garantice de modo efectivo un contacto primario con los servicios de salud, esto debe incluir de manera igualitaria a todos los grupos étnicos y comunidades presentes en los territorios. El segundo principio,

está relacionado con la integralidad de las acciones en los servicios de salud, hace referencia a la forma holística e integral que debe desarrollarse en torno a la comprensión y la interacción con el sujeto. Debido a que se comprende al mismo como un ser biopsicosocial, perteneciente a una familia y comunidad, capaz de autodeterminarse y transformar su entorno; de tal forma, el modelo se encamina a la atención, promoción, prevención de enfermedades, curación y rehabilitación de la salud. También, implica la presencia de los diversos servicios de salud en los territorios donde las comunidades lo necesiten.

El tercer principio, aborda la longitudinalidad y continuidad en el proceso de atención en salud, este implica una relación entre el equipo proveedor de los servicios de salud y la persona que los recibe con el fin de asegurar articulación, atención integral y de continuidad. El cuarto y último principio, se relaciona con la coordinación entre los niveles de atención en salud, esta coordinación debe ser lo suficientemente efectiva para garantizar el acceso efectivo y la prolongación de la atención, lo cual implica un trabajo interdisciplinario de manera efectiva, que permita abordar oportunamente a la persona.

La Familia

Las familias son sujetos históricos, complejos, receptores de condicionantes sociales; configuran una organización social que contiene intrínsecamente cambios y tradición, novedad y hábito, estrategias y normas. A lo anterior Ciccerchia afirma que “las costumbres y prácticas que conforman la cotidianeidad familiar, muchas veces ponen en evidencia las contradicciones existentes entre las prescripciones legales y religiosas, de un ideal familiar mediterráneo que traslapó otras formas familiares más propias, producto del mestizaje. Las familias forman parte de cambios en

las mentalidades, constituyen unidades diversas y dinámicas, y a la vez expresan preferencias individuales y condicionamientos sociales” (1999).

Los estudios sobre la realidad de las familias colombianas se inician con la obra de Virginia Gutiérrez de Pineda, *Familia y Cultura en Colombia*, este trabajo establece la relación diferencial entre familia, cultura, economía, historia y geografía en Colombia. En la presentación de la obra, se percibe el propósito inicial y su resultado:

Mi propósito al iniciar este estudio, se orientó a describir la tipología y la estructura familiar en Colombia. Pero a medida que se realizaba el trabajo de campo, el estudio del proceso histórico, y avanzaba en el análisis cultural, fui topando que el país se repartía en zonas configuradas bajo indicadores peculiares en cada una, de cuyo funcionalismo la institución de la familia venía a ser un fragmento, una consecuencia o una implicación causal. De esta manera, hábitat, proceso histórico, instituciones y cultura, configuraban unidades integradas con principios identificatorios propios (1968).

Este estudio muestra dos aspectos importantes, que son: la diversidad cultural en la cual se insertan las familias; y, la articulación de las diferentes disciplinas que permiten entender integralmente las dinámicas familiares. Esta investigación muestra como la diversidad cultural es fuente de la multiplicidad de las dinámicas familiares; describe las tipologías de familia tal y como se configuran a partir de la geografía, y de sus interrelaciones con lo económico, lo cultural, lo religioso y lo social. La autora divide al país en cuatro complejos culturales (andino o americano, santandereano o neo-hispánico, negroide o litoral fluvio-minero y antioqueño o de la montaña), cada uno de los cuales presenta un modo de ser familiar con características y funciones propias, inmerso en relaciones que dan lugar a comportamientos que se determinan a partir de las características de cada uno de los complejos estu-

diados. Afirma que “la institución de la familia constituye un campo desde el cual se divisan y dentro del cual se proyectan todas las instituciones de la comunidad en sus fallas y en sus aciertos. Focaliza más que ninguna las incidencias del devenir social patrio y los problemas del morbo social, conformando un punto clave en su cambio”.

Salud familiar en el contexto rural

La familia como unidad de lectura desde el ámbito de la salud pone en acento importantes variables a bordar, debido a que los conceptos de salud y las acciones asumidas por las familias no solo comprometen una decisión individual, sino un conjunto de decisiones y acciones familiares, tal como lo afirman (Campos *et al.*, 1995) “esto no solamente pasa por la transmisión de pautas culturales sino porque el proceso que se inicia con la definición de enfermedad hasta su curación este pleno de decisiones sociales que toma el grupo familiar, acuda o no a las instituciones de salud oficiales”, lo anterior pasa por una validación familiar de lo considerado como enfermedad, tratamiento y la confluencia de un servicio de salud.

De tal forma, las relaciones interpersonales que tienen base en la familia, se presume así, un concepto o consideración de salud de familiar; ahora bien, la comprensión de la familia como un sujeto social, es objeto de la dimensión de la salud desde su complejidad y el significado grupal, desde el conocimiento que se le otorga a la salud. Y es allí, en el grupo familiar, donde los elementos del contexto poseen relevancia e incidencia para afectar la salud de esta, factores demográficos, económicos, sociales y culturales, entre otros, influyen de manera directa en los aspectos familiares.

Los autores mencionados retoman las conclusiones respecto a las afectaciones de ciertos tipos de enfermedades, en miem-

bros directos de la familia, a causa a factores económicos o sociales, tal como sociedad y con los jefes de hogar, entre otros.

Trabajo social en el sector salud

El Trabajo Social concibe la salud y la enfermedad como hechos sociales colectivos, que superan la concepción biológica y, trascienden la intervención más allá de las ciencias médicas, involucrando a las ciencias sociales en procesos de promoción, prevención, atención y rehabilitación; en este marco, considera el área de la salud como uno de sus campos tradicionales de ejercicio profesional.

De esta manera el (la) trabajador(a) social es capaz de identificar las necesidades y problemáticas sociales que afectan la salud de las personas, hogares y comunidades, desarrollando su labor no solo al interior de las instituciones de salud, sino en espacios donde tienen lugar las relaciones sociales y, se generan redes de apoyo que soportan y ayudan a la persona enferma: en el hogar, en el trabajo, en la escuela. Así, la profesión, enmarcada desde el enfoque de derechos, se apropia de su dimensión política, promoviendo acciones de participación social y comunitaria para el fomento de la salud, con el fin de hacer a la ciudadanía coparticipe en la defensa y promoción de la salud y, la dignidad de la vida como derecho humano fundamental.

En el equipo interdisciplinario, el Trabajo Social aporta el diagnóstico social, identificando factores de riesgo social, que pueden ser del orden individual, familiar y comunitario; el cual se elabora teniendo en cuenta aspectos particulares de la población como: edad, sexo, etnia, nivel socioeconómico, ubicación y condiciones de la vivienda, pertenencia a grupos u organizaciones, entre otros. Con lo anterior, el equipo de atención profesional puede elaborar un diagnóstico global del paciente y, un pronóstico real

en su plan de tratamiento, teniendo en cuenta tanto los factores de riesgo social, como los factores protectores con los que cuenta el usuario.

Metodología de investigación utilizada

La presente investigación es un estudio cuantitativo definido por (Collado *et al.*, 2006) como “el uso de correlación de los datos para probar hipótesis, con base en la medición numérica y el análisis estadístico [...]” lo cual responde a los objetivos que se orientan por la caracterización cuantitativa del territorio, el aspecto socioeconómico, demográfico, salud, cobertura, recursos y acceso del municipio de Guayabetal. Es de carácter exploratorio y descriptivo debido a su innovación en el territorio, lo anterior se puede definir siguiendo las ideas de (Bautista *et al.*, 2014) como “investigación cuyos antecedentes no define o refieren al problema de investigación, los conocimientos no son aplicables al contexto en el cual habrá que desarrollarse”; en relación a la descriptivo, se considera “donde se encuentran algunos indicios o elementos similares al problema de investigación y funcionan como apoyo empírico”. En cuanto al tiempo de recolección de información, es importante establecer que responde al año 2017, debido a las fuentes de información tales como: informes, censos, reportes entre otros que son relevantes y exponen la información estadística de las instituciones municipales. En relación con universo, se contemplan las familias y de allí, se desarrollará una muestra aleatoria intencional, la cual permita manejar las distancias existentes entre las veredas del municipio y la ubicación de la población.

Resultados y conclusiones

Características históricas del municipio de Guayabetal

El departamento de Cundinamarca y, puntualmente el municipio de Guayabetal, en su extensión, como se conoce en la actualidad, fue ocupado por indígenas Chibchas, quienes desarrollaban ancestralmente su dinámica social, política, económica y cultural en dicho territorio (Gobernación de Cundinamarca, 2015). En 1538 con la llegada de Gonzalo Jiménez de Quesada, Nicolás de Federmann y Sebastián de Belalcázar se ratifica su acto de fundación y su capital. Es así, que durante la Colonia el departamento se convirtió en centro de desarrollo social, político, económico y cultural concentrando sus actividades en Santa Fe de Bogotá como capital del virreinato de la Nueva Granada, no obstante, dicho crecimiento trajo consigo el desarrollo de otros municipios cercanos y conectivos con el resto del territorio nacional. Posterior a lo descrito, Cundinamarca adoptó varias formas de gobierno durante las épocas subsiguientes, hasta consolidarse después de la constitución de 1886 como departamento, momento en el cual toma el nombre de Cundinamarca.

Lo concerniente al municipio de Guayabetal y tras la consolidación y desarrollo del departamento de Cundinamarca, el municipio inició su reconocimiento alrededor de 1920, posteriormente en 1942 se adquirió, por parte de un privado, algunos terrenos con el fin de fundar un caserío cuyo nombre inicial fue Tengavita, dicho nombre sería cambiado posteriormente para consolidarse como Guayabetal. Entre los años 1944 y 1980 dicho territorio pasó de ser un caserío a una inspección departamental y posteriormente, se convirtió en municipio. En la actualidad, se consolida en el departamento debido a su proximidad con las ciudades de

Villavicencio y Bogotá, por ser un municipio de tránsito, su producción agrícola y turística.

Características geográficas

Ahora bien, en concordancia con los elementos expuestos en la introducción, se abordan las características geográficas del municipio, compuestas por la división política, extensión territorial, relieve, condiciones climáticas, hidrografía, límites y fronteras, ubicación geográfica y la distribución de la población en la cabecera municipal y el área rural.

Guayabetal está ubicado sobre la cordillera oriental, a 1.500 metros sobre el nivel del mar, su temperatura promedio es de 22° C y, cuenta con una extensión de 22.173,742 hectáreas; está ubicado en la región oriental del departamento de Cundinamarca, sobre la vía que conduce de Bogotá a Villavicencio y forma parte de los diez municipios que conforman esta región. El municipio limita por el norte con el municipio de Quetame, por el sur y oriente con el departamento del Meta, por el occidente con los municipios de Gutiérrez y Fosca.

Su división política se compone de la cabecera municipal y la inspección de Tunque del Naranjal y cuatro zonas veredales.

El área urbana cuenta con 5 sectores (Centro, Entre ríos, Flandes, Barrio Nuevo y Buenos Aires). El casco urbano se encuentra ubicado entre el río Negro, la quebrada Perdices, y al extremo, el río Blanco.

De lo anterior es importante afirmar que el municipio de Guayabetal tiene una extensión territorial de 1.915 Km², distribuidos de la siguiente manera: 1.865 km² en el área rural y, 50 km² en la cabecera municipal y centros poblados.

El municipio se encuentra rodeado por dos ríos y una quebrada: río Negro, río Blanco y, quebrada las Perdices, se encuen-

tra ubicado sobre la cordillera oriental, la topografía es inestable y el terreno del municipio presenta fallas geológicas; la zona que presenta mayor riesgo es el área urbana debido a su proximidad con los ríos mencionados. El municipio se encuentra en una región muy destapada con pendientes de más del 50% en la mayoría de su territorio y con alturas que oscilan entre los 850 m., y los 3.000 m. sobre el nivel del mar.

En general, el territorio tiene una alta susceptibilidad a la erosión, debido a las características físicas del suelo y a factores de tipo ambiental y topográfico que incrementan la remoción de suelo, lo cual se ha presentado en la actualidad con los derrumbes ocurridos en el mes de agosto del año 2018. Estas características, sumadas a las actividades realizadas por el hombre en el área, han fomentado el grado de deterioro del municipio. En relación con lo expuesto, existen eventos de índole natural que alteran y ponen en riesgo a los habitantes del territorio como son: los movimientos sísmicos sobre una amplia zona del área municipal, las zonas más afectadas por este suceso son las que presentan pendientes (>50%), geo inestabilidad alta y deslizamientos constantes.

De acuerdo con lo anterior, el municipio de Guayabetal cuenta con una población masculina correspondiente a 2.457 hombres o el 49.2%, y la población femenina representa el 50.7% equivalente a 2.527 mujeres.

La cobertura en salud

La información que será expuesta en párrafos posteriores tiene su origen en diversas fuentes, tales como registro de entidades del municipio, datos nacionales del DANE y entrevistas semiestructuradas realizadas por las docentes que lideran el semillero en compañía del alcalde de Guayabetal, profesionales de diferentes programas y las gestoras sociales de los territorios.

Acceso geográfico relacionado con la situación de salud de las familias residentes del municipio de Guayabetal

En cuanto a este aspecto, los referentes teóricos afirman que debe conocerse y reflexionar en relación con las implicaciones que tienen los tiempos de desplazamiento entre los habitantes más dispersos de un territorio y el acceso a servicios de salud.

En consecuencia, el tiempo exacto que toman en promedio los habitantes de cada vereda del municipio en llegar a la cabecera municipal y acceder a los servicios de salud, no se conoce con exactitud y es un factor que cuantitativamente no se ha completado, no obstante a lo mencionado, el Municipio de Guayabetal y la gestión de los sectores que componen las autoridades territoriales han diseñado, probado, implementado y evaluado de manera empírica una estrategia de atención primaria en salud, la cual se desplaza a los territorios promoviendo la mayor cobertura, con enfoque territorial, desde el abordaje de los aspectos sociales, culturales, económicos, familiares y comunitarios que se presentan en los territorios particulares.

Dicha estrategia se compone de varios actores, que son enlaces y referentes de instituciones como la Comisaria de Familia, el Centro de salud del Municipio, el Hospital de San Rafael en Cáqueza, la Dependencia de desarrollo social y económico, entre otros; otro actor que se revela como relevante son las Gestoras en salud del municipio, estas se desplazan a un grupo de veredas aginadas con un proceso determinado y amplio conocimiento en la activación de redes de apoyo y gestión en términos de salud.

Respecto a las líneas o canales que se realizan desde dicha estrategia y según entrevista realizadas a los funcionarios que participan de ella, se desarrollan cuatro canales: el primero de ellos, es la participación de auxiliares de enfermería; el segundo, la colaboración de las gestoras sociales del territorio; el tercero, la presencia de las promotoras de la Atención Primaria en Salud; y cuarto, el fortalecimiento del centro de salud del municipio.

Desde estos cuatro canales se abordan actividades como encuentros para cuidadores y personas hipertensas, salud oral y caracterización, entre otros, en tal orden se enfatiza en el proceso que realizan las gestoras sociales en salud, el cual consiste en primera medida un cronograma de visitas a cada vereda, la entrega de historias clínicas de los habitantes que dichos territorios, la convocatoria a brigadas de salud en medicina general y enfermería en apoyo de los presidentes de junta de acción y los agentes comunitarios, la atención por parte de los profesionales en salud y la entrega de medicamentos; de haber lugar a medicamentos o atención médica especializada o de mayor profundidad, las gestoras realizan el proceso de autorización con las EPS que tiene cobertura en el territorio. De presentarse situaciones de violencia, las gestoras realizan la identificación, las visitas domiciliarias y el reporte a comisaria con el fin de activar la entidad competente respecto a la necesidad. A manera de refuerzo, abordaje grupal a través de encuentros con las comunidades, en los que se socializan las rutas de atención que tienen las entidades territoriales y los programas competentes a la población y los 48 agentes comunitarios que se tienen en el municipio, con presencia de dos agentes por vereda.

A manera de cierre y tras la exposición de la estrategia anterior, puede inferirse que la extensión del municipio propicia implementar acciones que acerquen los servicios de salud a la población de manera eficiente y con un enfoque territorial.

Acceso a servicios específicos relacionados con la situación de salud de las familias residentes del municipio de Guayabetal

El acceso a servicios es contemplado desde varios ejes, tales como los costos promedio de los servicios de salud en términos de cuotas moderadoras y otros, afiliación de personas al régimen contributivo o subsidiado, programas de planificación familiar, crecimiento y desarrollo, acceso a medicamentos, características de los servicios de salud, distribución y servicios de IPS, progra-

mas de detección temprana, promoción y prevención, servicios de urgencia y obstetricia. La información mencionada se desarrollará desde las experiencias y los testimonios de los gestores, profesionales y otros actores importantes del territorio.

Ahora bien, es importante identificar los regímenes de afiliación de los habitantes del municipio, hechas las consideraciones, se identifican las personas afiliadas al régimen subsidiado de salud para el año 2016, que fueron 3.661 personas en relación con 322 personas del régimen contributivo; lo cual permite reflexionar acerca de las 1.001 personas que no referencian hacer parte de los regímenes del sistema de salud y que representan un considerable 20% de la población total del municipio.

Respecto a los servicios de control de enfermedades, prevención y promoción de la salud, el trabajo intersectorial es relevante, en tanto que las diferentes instituciones que operan en el territorio generan estrategias para abordar diversos temas, desde el control de enfermedades, se encuentra la estrategia del club de la hipertensión, en temas de promoción las campañas de salud oral y medicina general. En relación con la prevención, se aborda desde la salud mental el consumo de sustancias psicoactivas, en el nivel de atención la salud mental nivel individual y familiar.

Este acompañamiento familiar, que se realiza desde la psicología y su abordaje de la salud mental, retoma temas como el acceso a derechos desde la inserción escolar, métodos de planificación familiar y un proyecto de vida basado en las buenas prácticas del cuidado, según hacen referencias los diferentes actores e instituciones del municipio, el proceso descrito se ha realizado a 75 familias de Guayabetal.

En concordancia con lo anterior y desde la referencia que hace el enlace de familia en el municipio, se aborda la experiencia de los encuentros pedagógicos con la población, la identificación, estudio, inclusión y seguimiento de las familias que entran a ser parte del programa Familias en Acción del gobierno nacional, en

el que se encuentran personas de todos los ciclos vitales y con diversas discapacidades. De manera mancomunada y con el fin de brindar una atención integral a los integrantes de la familia, las gestoras acompañan, gestionan y orientan los procesos de acompañamiento en los programas de crecimiento y desarrollo enfocados a la primera infancia.

Con relación a la presencia de instituciones prestadoras de servicios de salud entre las diferentes categorías existentes, en el municipio se encuentra el Centro de Salud, ubicado en la cabecera municipal; Centro de Salud Guayabetal, dicho centro de salud, retomando lo expuesto por los entes territoriales, cuenta con programas de promoción de la salud y prevención de enfermedades, controles prenatales los cuales y según su diseño, hacen hincapié en la semana número doce de la gestación con el objetivo de identificar anomalías, enfermedades y así obtener embarazos saludables. De manera consecuente se lleva a cabo el programa de crecimiento y desarrollo, consulta médica para jóvenes y adultos como estrategia de detección temprana de enfermedades, servicio de optometría, citologías y planificación familiar cuyo fin es la reducción de embarazos no deseados y embarazos en ciclo vital de adolescencia; para finalizar, las características del centro de salud de Guayabetal, se expresa en la detección de enfermedades y su posterior remisión a centro u hospitales especializados.

No obstante, la presencia del centro de salud en el municipio, según información obtenida a través de grupos focales con representantes del mismo, se informa que existen dos EPS con presencia en el territorio, la primera de ellas es CONFACUNDI, la cual brinda servicios de afiliación, autopercepción, autorizaciones y orientación; en términos de atención se oferta la promoción, prevención y orientación de dichos servicios focalizadas a los ciclos vitales con presencia en el territorio. La segunda, EPS CONVIDA, centra su atención en términos de afiliación, pacientes hipertensos, diabéticos y madres gestantes.

Para concluir y pese a no tener presencia directamente en el municipio de Guayabetal, este último ha realizado un convenio con el Hospital San Rafael en Cáqueza-Cundinamarca, con el objetivo de brindar servicios especializados y de urgencias médicas a los habitantes de Guayabetal, a este hospital se remiten los casos cuya necesidad lo requiera.

Gestión territorial de la salud relacionada con la situación de salud de las familias residentes del municipio de Guayabetal

Este aspecto está compuesto de varios elementos, tales como los programas de salud con presencia en el territorio, saneamiento básico y vigilancia en salud pública; los cuales se retomarán y desglosarán de manera consecuente.

En relación a los programas que tiene presencia en el territorio se continuará con el desarrollo de la estrategia que en esta caracterización se ha desarrollado, a razón de lo expuesto, cada uno de los gestores y funcionarios enlace que hacen parte de esta estrategias abordan diversos temas, tales como: las prácticas de higiene, transversalizadas en la preparación de los alimentos de autoconsumo, las prácticas del buen vivir, desde el reconocimiento de la matriz cultural; y por último, la inclusión de las personas en situación de discapacidad en la oferta en salud y educación del municipio.

Respecto a los programas, desde el actual manejo, se refieren dos: el primero de ellos, denominado Pienso en el futuro, el enfoque de este es la prevención del consumo de sustancias psicoactivas a través del fortalecimiento de factores protectores en los ciclos de adolescencia, juventud y adultez temprana.

El segundo programa, es Mejoramiento de Vida, el cual aborda diversos temas, con el objetivo de tener una transversalización desde las diferentes necesidades de la familia y sus integrantes, los temas que aborda son la prevención temprana de enfermedades, los hábitos de alimentación saludables, las buenas relaciones interpersonales en las comunidades, el proyecto de vida familiar desde los ámbitos económicos, físico, laboral, educativo a corto, mediano y largo plazo y de manera complementaria, la importancia del cuidado y la óptima utilización de los recursos del medio ambiente.

Referencias bibliográficas

Acosta, O. L., Botiva, M. A., Ramírez, J. C. & Uribe, L. (2016). *La protección social de la población rural en Colombia*. Santiago de Chile: Naciones Unidas.

Allan, L. (2007). *Apuntes para una reflexión institucional en países de la subregión andina sobre el enfoque de la gestión del riesgo*. Proyecto de apoyo a la prevención de desastres en la comunidad Andina. Predecan.

Álvarez Castaño, L. S. (Diciembre de 2009). Los determinantes sociales de la salud: más allá de los factores de riesgo. *Rev. Gerenc. Polit. Salud, B*, 8 (17), 69-79 Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/ngps/v8n17/v8n17a05.pdf>

Benavides, J. & Rodríguez, D. Salud y ruralidad en Colombia: análisis desde los determinantes sociales de la salud. *Revista facultad nacional de salud pública*, 34 (2) (septiembre-diciembre, 2016), 2-14.

Berlinguer, G. Determinantes sociales de la enfermedad. *Revista cubana de salud pública*, 13 (1) (enero-marzo, 2007), 1-10.

Carmona, Z. & Parra, D. *Determinantes sociales de la salud: un análisis desde el contexto colombiano*. Salud Uninorte, 31 (2), (2015), 2-15.

Gobernación de Cundinamarca (2 de febrero de 2015). *Historia de Cundinamarca*. Disponible en http://www.cundinamarca.gov.co/Home/Cundinamarca.gc/ascundi_historiacontenidos/chistoria

Departamento Nacional de Planeación. (2016). *Ficha de caracterización territorial - contexto general*. DANE.

González Gúzman, R. (2009). *La medicina social ante el reporte de la comisión sobre los determinantes sociales de la salud*. Organización Mundial de la Salud.

Iriat, C., Waitzkin, H., Breilh, J., Estrada, A. & Merhy, E. E. Medicina social latinoamericana: aportes y desafíos. *Panam Salud Pública*, 12 (2) (agosto, 2002), 2-5.

Ministerio de Salud y Protección Social (2012). *Análisis de la situación de salud en Colombia 2002-2007*. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia.

Ministerio de Salud de Nicaragua (2007). *Marco conceptual, modelo de salud familiar y comunitario*. Managua: Ministerio de Salud.

Moreno, C., Villada, S., Huertas, J., Avella, A., Molina, A., Estupiñán, A. & Palacios, P. (Junio de 2016). *Guía conceptual y metodológica para la caracterización de la población afiliada a las entidades*. Bogotá.

Municipio de Guayabetal. (2017). *Análisis de situación en salud con el modelo de los determinantes sociales de la salud*. Guayabetal.

Páez, R., Del Valle Idágarra, M., Gutiérrez, Y. & Orozco, M. (2016). *La familia rural y sus formas de diálogo en la construcción de paz en Colombia*. Bogotá: Universidad de la Salle.

Pichihua, J. et al. (2007). *Efectos del nivel socioeconómico sobre algunos indicadores de salud y la nutrición en la niñez, Perú. 2003-2004*. Disponible en <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/handle/INS/230>

Piédrola, G. (2009). *El concepto de salud*. Disponible en <https://pochicasta.files.wordpress.com/2009/03/concepto-de-salud.pdf>

Sistema Nacional de Salud de El Salvador (s.f.). *Modelo de atención integral con enfoque de salud familiar*. San Salvador: República de El Salvador.

Sosa, M. (2012). *¿Cómo entender el territorio?* Guatemala: Cara Parens.

Valero, L. (s.f.). *Fundamentos de demografía*. Disponible en http://ocw.usal.es/ciencias-biosanitarias/epidemiologia-general-y-demografia-sanitaria/contenidos/01%20PROGRAMA%20TEORICO/00%20DEMOGRAFIA%20Temas%201_3%20en%20PDF/01%20Temas%201_3%20Fundamentos%20de%20Demografia.pdf

Capítulo 3

Potencial de dos plantas macrófitas invasivas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* como antimicrobianas contra microorganismos patógenos de humanos, animales y plantas

Ligia Consuelo Sánchez Leal*

Martha Lucía Posada Buitrago**

Ruth Páez Díaz***

Edisson Tello Camacho****

Jimmy Jolman Vargas Duarte*****

* lconsuelosanchez@unicolmayor.edu.co – Magister Universidad Militar Nueva Granada/ Magister Pontificia Universidad Javeriana – Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca – Docente de Planta Tiempo Completo.

** mlposada@unicolmayor.edu.co – Doctorado Universidad Complutense de Madrid - Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca – Docente de Planta Tiempo Completo.

*** rpaezd@unicolmayor.edu.co – Magister Universidad Militar Nueva Granada – Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca – Docente Ocasional Tiempo Completo.

**** edisson.tello@unisabana.edu.co – Doctorado Universidad Nacional de Colombia – Universidad de la Sabana – Investigador Senior – Docente de Planta.

***** jjvargasd@unal.edu.co – Doctorado en Doctorado Université de Namur - PhD en Sciences Vétérinaires – Universidad Nacional de Colombia – Investigador Asociado - Docente de Planta.

Resumen

Las plantas han sido utilizadas por nuestros ancestros para tratar problemas de salud. En la actualidad, ese conocimiento etnobotánico tiene como objetivo buscar compuestos con alguna actividad biológica que ayude al ser humano. Algunas plantas, consideradas plantas invasivas de cuerpos de agua, el buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y la lenteja de agua (*Lemna gibba*), tienen un rápido crecimiento y efecto negativo porque propician la eutrofización y establecen ambientes que albergan vectores de enfermedades.

A pesar de ser un problema ambiental, en consideración a que todas las plantas tienen un potencial curativo, el grupo Ceparium de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca realizó un proyecto con extractos de estas plantas, que evalúa la acción antimicrobiana y, así, presentar una alternativa de solución a la resistencia de patógenos que atacan la salud humana, veterinaria y vegetal. En esta revisión documental, se sustenta todo el trabajo investigativo del grupo.

Introducción

Después de haber avanzado en lo tecnológico y en el desarrollo informático, el hombre retorna a lo natural y orgánico y, se da cuenta que debe respetar y procurar la sostenibilidad del ambiente. En esta medida, investigar con sustancias de origen natural, baja el impacto sobre el entorno y, disminuye los factores que aceleran el deterioro de los recursos naturales.

Adicionalmente, el conocimiento sobre los recursos naturales, especialmente las plantas, es una de las alternativas utilizadas en la búsqueda de nuevos compuestos, con fines farmacológicos

para responder a los problemas de salud humana, sin olvidar que la salud animal y de las plantas hace parte de la cadena eco ambiental requerida para la supervivencia y sostenibilidad del hombre en el planeta.

Profesionales de diversas disciplinas han realizado investigaciones dirigidas a buscar nuevas terapias antimicrobianas que alternen o reemplacen las existentes, debido a la creciente resistencia que presentan los patógenos bacterianos que atacan, particularmente al hombre, pero también a los animales y a las plantas. En el área de salud pública, el impacto que tiene esta búsqueda, está relacionado con la calidad de vida de las personas en términos de sanidad y también en el costo-beneficio que implica tratar estas patologías (Organización Mundial de la Salud OMS, 2001).

Estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud OMS (2016), la Comunidad Andina de Naciones (CAN) (Corporación Andina de Fomento CAF, 2005) y la Universidad Nacional de Colombia (Español, 2017), entre otros estamentos nacionales e internacionales, establecen que mediante la bioprospección y aprovechando los recursos naturales en Colombia se podrían diseñar nuevos fármacos de origen natural, los cuales serían utilizados para mitigar la problemática de resistencia microbiana y, a la vez permitir la conservación ambiental de los micro y macro organismos que pudieran ser utilizados para este fin (Duarte & Velho, 2008). Entre los organismos vivos más investigados, con fines de bioprospección, se encuentran las plantas (Saslis-Lagoudakis *et al.*, 2012), las cuales tienen sustancias que han demostrado su capacidad de inhibir el crecimiento *in vitro* de patógenos y, muchas de ellas son usadas en la medicina tradicional para tratar diversas infecciones (Rojas, Avellaneda & Cuellar, 2010). Los investigadores han llegado incluso a identificar proteínas blanco que aparecen específicamente cuando se hacen tratamientos con extractos de plantas (Yong, Ooh, Ong, Chai & Wong, 2015).

Las plantas buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y lenteja de agua (*Lemna gibba*) están clasificadas como “indeseadas” o malezas de agua, pues invaden los cuerpos hídricos, por su rápida reproducción, disminuyendo el nivel de oxígeno del agua, alterando su calidad y la composición microbiana de las reservas acuáticas (Fuentes & Romero, 1991). Su tasa de crecimiento y reproducción es muy alta y por tal motivo puede afectar los cuerpos de agua; al crecer de forma descontrolada en la superficie del agua, evita el paso de la luz solar interfiriendo con los procesos fotosintéticos de algas y fitoplancton que allí se encuentran, deteriorando de esta forma la calidad del agua (Fuentes & Romero, 1991).

El buchón de agua *Eichhornia crassipes* ha sido ensayado como antibacteriano y antifúngico (Shanab, Shalaby, Lightfoot & El-Shemy, 2010). En el caso de *Lemna gibba*, ha sido más investigada por su capacidad para procesos de bioremediación, por ser un potente bioacumulador de cromo, cadmio, cobre, níquel, plomo y selenio (Sasmaz, Obek & Sasmaz, 2019). En el área de uso terapéutico, la lenteja de agua (*Lemna spp.*) se ha descrito como una planta acuática con efectos fungicidas, propiedades inmunomoduladoras, antioxidante y ampliamente utilizada como materia prima para la producción de analgésicos y remedios antipiréticos (Gulcin, Kirecci, Akkemik & Topal, 2010).

Con relación a la resistencia de patógenos humanos, la Organización Mundial de la Salud OMS, en colaboración con la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID), el Departamento para el Desarrollo Internacional del Reino Unido y al Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar del Japón (OMS, 2001) manifiesta que la resistencia afecta los costos de la atención en salud en todo el mundo y resalta la importancia de tener en cuenta que las tasas de resistencia son diferentes según la región, razón por la cual, las estrategias no pueden ser únicas. Igualmente, se refiere a la repercusión que tiene en la salud humana el uso de alimentos como la carne, en donde están presentes patógenos

resistentes, que incluso pueden derivar en demandas por alimentos contaminados. Aunque hablan de la dificultad para establecer costos exactos, por la multiplicidad de factores que involucra la resistencia bacteriana, también consideran que una de las estrategias es apoyar programas de investigación para encontrar nuevos antibióticos que amplíen la oferta de los existentes y, por lo tanto, se debe dar apoyo económico a estudios dirigidos de nuevos medicamentos.

Jorgensen, estableció que el valor aproximado podría estar entre los cien millones y treinta billones de dólares anualmente, teniendo en cuenta solo dos aspectos, las estancias prolongadas de pacientes en los centros hospitalarios y, la necesidad de usar antibióticos cada vez más potentes los cuales pueden ser más tóxicos, agresivos y costosos (1997). La OMS considera que no es fácil establecer costos relacionados con la resistencia bacteriana y en un documento oficial de la Organización realizado por Nicolle Lindsay (2001), establece los diferentes aspectos que se deben tener para determinar los costos y afirma que es muy difícil hacer un estudio costo – beneficio por la cantidad de variables que implica la resistencia microbiana. Finalmente, en 2016, la OMS establece un Plan de acción mundial para luchar con la resistencia a los antimicrobianos.

Sobre los datos en Colombia, específicamente en Bogotá, la Secretaría Distrital de Salud a través del grupo de Resistencia Bacteriana, anualmente desde el año 2010, (Ministerio de Salud y Protección Social, 2018) identifica los microorganismos de mayor aislamiento intrahospitalario y sus patrones de resistencia. El Ministerio de Salud y Protección Social (2018) emite el Plan Nacional de respuesta a la resistencia a los antimicrobianos y, da inicio al plan estratégico que incluye cinco líneas de trabajo, “a través de un proceso participativo, en el cual se involucran diferentes sectores y actores, relacionados tanto con la salud humana como la salud animal, el control fitosanitario y el ambiente. Es una iniciativa

apoyada por la OMS/OPS y la FAO” (OMS, 2016). Una de las líneas estratégicas es apoyar investigaciones que controlen la problemática de resistencia a los antimicrobianos.

En el caso de las enfermedades en animales, producidas por bacterias, la importancia cada vez es más grande, por el compromiso que tiene el alto consumo de antibióticos en animales comerciales. Un caso reportado en la literatura y relacionado con genes de resistencia bacteriana, es el de *Staphylococcus aureus* con evidencia de multiresistencia (Wendlandt *et al.*, 2015). Otra bacteria es: *E. coli* en perros, gatos y animales de cría que son utilizados como mascotas; aunque en el hombre esta bacteria hace parte de la flora intestinal, la *E. coli* puede causar enfermedades intra y extraintestinales, evidenciando altos niveles de resistencia a los antibióticos, como es el caso de las infecciones urinarias en humanos (Leite-Martins *et al.*, 2014).

Con relación a los animales de campo: cerdos, aves y bovinos, el mayor problema es la residualidad en ellos y en suelo, donde se incorpora por la rizosfera a la planta; investigadores trabajan para demostrar que la cadena alimenticia puede ser una de las causas de resistencia bacteriana en animales y humanos; el consumo de plantas y carne con esa residualidad puede ser un determinante de genes de resistencia bacteriana. Este fenómeno puede ser uno de los factores de multiresistencia de los patógenos humanos (Jechalke, Heuer, Siemens, Amelung & Small, 2014). Por otra parte, Forsberg investigó sobre genes de resistencia presentes en el suelo y su similitud con los genes de resistencia de los patógenos humanos o “resistomas” (2014). De ahí la importancia de que los estudios no solo se realicen con patógenos humanos, sino también con patógenos animales y de plantas, por eso, en el proyecto experimental se incluyen bacterias de las tres procedencias.

En el área agrícola, la situación es también crítica por parte de patógenos de plantas debido al manejo indiscriminado de agroquí-

micos, lo que aumenta constantemente la resistencia a biocidas y antibióticos que controlan los patógenos; y a su vez, se pierde un buen número de microorganismos benéficos que le proveen a la planta un nivel de resistencia natural. A diferencia de la salud humana o veterinaria, la sanidad de las plantas se traduce en ganancias para el productor. Muchos cultivos de exportación y consumo interno en Colombia tienen problemas bacterianos y no es fácil su tratamiento, las pérdidas pueden oscilar entre el 50% y 80% en caso de una epifitía grave e, incluso llegar al 100% que equivale a la pérdida total para el agricultor. Tres casos específicos de resistencia bacteriana en plantas en Colombia han sido reportados y que son de interés de los grupos de investigación; el primero en Pasifloras, específicamente en gulupa y maracuyá por el ataque de *Xanthomonas* (Farfán, Benitez & Hoyos, 2014); la presencia de *Ralstonia* en tomate (Sang Gyu *et al.*, 2016) una bacteriosis que se manifiesta en forma agresiva en época de lluvias y *Lelliottia sp.* una bacteria que es emergente en los cultivos de papa y que se manifiesta en el proceso de almacenamiento (Arevalo, Rodríguez & Vivas, 2016).

Resistencia microbiana

Los antibióticos son compuestos o sustancias, ya sea de origen biológico o sintético, con la capacidad de matar a un microorganismo inhibiendo su crecimiento (Melendez *et al.*, 2005). La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antipalúdicos o antihelmínticos) sufren cambios. Como resultado, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el organismo, incrementando el riesgo de propagación. Según

la OMS, están apareciendo nuevos mecanismos de resistencia a nivel mundial y ponen en peligro la capacidad del sistema de salud para tratar enfermedades infecciosas comunes, con el consiguiente aumento de la discapacidad, muerte, y prolongación de la enfermedad (2016).

La producción de antibióticos es un negocio provechoso y la industria farmacéutica asegura que los antibióticos son sustancias que generan muy buenos ingresos, se calcula que se invierten más de 5 millardos de dólares por año (OMS, 2001). La resistencia más documentada es la bacteriana. Al respecto, y, revisando el descubrimiento y evolución de los antibióticos, la penicilina, fue el primer antibiótico descubierto por Fleming en 1928, pero solamente desarrollado hasta 1940 por Florey y Chain. En este periodo de tiempo aparecieron la Proflavina en 1934 y el Prontosil que fue el pionero de las sulfamidas. Aunque la penicilina desplazó en alguna medida a las sulfonamidas por su mayor efectividad, estos antibióticos no eran efectivos para todas las bacterias y se abrió paso la creación de nuevos antibióticos. Ningún antibiótico de los que se produjeron posteriormente sirve para combatir todas las bacterias, cloranfenicol, cefalosporinas, macrólidos, ácido nalidíxico, tetraciclina, beta lactámicos y ciclo péptidos. En 1987, aparece una segunda generación de antibióticos con la ciprofloxacina que por su amplio espectro se convirtió en una de las principales sustancias químicas con gran valor para los laboratorios farmacéuticos (Groundwater, Todd & Worsley, 2012).

Casi simultáneamente con la aparición de los antibióticos, aparece la resistencia bacteriana. En 1947, solo dos años después de aparecer la estreptomycin, se reportan los primeros patógenos resistentes a esta y se reporta fracaso de más del 80% de las terapias antituberculosas (Bennet, Dolin & Blaser, 2015). En estos mismos años, ya se había descubierto que existían microorganismos con capacidad intrínseca de inhibir la acción de fármacos con anillo β -lactámico por tener un efecto hidrolizante sobre el anillo y

romper la unión amida, lo que ocasiona que el antibiótico sea incapaz de inhibir la formación de la pared bacteriana (Stuart, 1992).

Tan solo una década después de emplear la penicilina a gran escala se presentaron las primeras cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a este antibiótico (Saga & Yamaguchi, 2009). Durante esta misma década, años 50, se empieza a utilizar antibióticos, de forma indiscriminada, en la industria ganadera y alimentaria, ya sea para prevenir la aparición de enfermedades en animales de interés comercial o como conservantes en los alimentos (Mejia *et al.*, 2008). En 1963, se descubre la primera β -lactamasa TEM-1 en Gram negativos y pocos años después aparecieron enfermedades nosocomiales por bacilos Gram negativos resistentes a β -lactámicos (Fariñas & Martínez, 2013).

Con relación a los hongos, se ha encontrado resistencia por parte de *Candida albicans*, la cual es oportunista en niños, neonatos y en cuidados intensivos. Se ha observado un gran número de pacientes que no responden a los tratamientos con antimicóticos derivados de los azoles y polienos (López-Avila, Dzul-Rosado, Lugo-Caballero, Arias-Leon & Zabala-Castro, 2016).

El mayor problema de los mecanismos de resistencia por parte de los hongos en humanos es que se incrementa en individuos inmunocomprometidos. El género *Aspergillus* ha sido reportado como uno de los principales hongos filamentosos que presenta resistencia. La resistencia se reporta como multifactorial, condición inmunológica del huésped, farmacocinética del antifúngico y la especie de hongo infectante (Vahedi-Shahandashti & Lass-Flörl, 2019).

Los nuevos avances para entender la resistencia antifúngica están relacionados con las bases moleculares que la sustentan. Morio y colaboradores (2017), plantean que las especies de levaduras clínicamente relevantes, pueden adquirir resistencia al exponerse a la mayoría de los medicamentos antimicóticos usados en la clínica. En este trabajo, los investigadores presentan una

descripción general de los hallazgos más recientes sobre los mecanismos moleculares clave, que evolucionan en las levaduras patógenas humanas, particularmente *Candida spp.* Adicionalmente, incluyen los métodos actualmente disponibles para las pruebas de susceptibilidad antifúngica *in vitro* y para la detección molecular de mutaciones asociadas con la resistencia. Finalmente, analizan los factores de resistencia antifúngica a la luz de los espectros de resistencia a múltiples fármacos observados en la *Candida glabrata* (Morio, Hare, Le Pape & Cavling, 2017).

Plantas y Bioprospección

Buchón de agua - *Eichhornia crassipes*

Es una planta acuática de libre flotación, sus raíces no se encuentran fijas a ningún sustrato, sino flotando en una columna de agua, la flor puede ser de color blanco o azul violeta, de tamaño variable y puede alcanzar los 60 cm de largo (Gómez, 2012). Se ha demostrado sus propiedades biorremediadoras, al ser capaz de absorber metales pesados presentes en agua.

Es considerada como una planta invasora acuática, causando problemas serios por su alta reproducción y crecimiento, además de su alta competitividad con otras plantas por los nutrientes y fuente solar, disminuyendo la densidad poblacional de especies individuales o en conjunto presentes en el ecosistema acuático, afecta de igual forma a la fauna acuática; su proliferación reduce el oxígeno del agua haciendo que este recurso sea potencialmente anóxico lo que produce que muchas especies de peces no puedan utilizar el oxígeno para su respiración y mueran a causa de este efecto (Gómez, 2012).

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) la *Eichhornia crassipes* es considerada una de las 100 especies exóticas invasoras más dañinas del mundo (Lowe, Browne, Boudjelas & De Poorter, 2000), debido a su alta reproducción y crecimiento, según datos de la Corporación Autónoma Regional (CAR) su crecimiento puede ser de hasta 62 cm por mes en un tapete flotante, y sus plantas se duplican cada 2 semanas por retoños o estolones; además, por su alta competitividad con otras plantas por los nutrientes, fuente solar y oxígeno puede causar la extinción o disminución de la densidad poblacional de especies individuales o en conjunto presentes en el ecosistema acuático incluyendo plantas y peces (CAR, 2011).

En la actualidad, a nivel de Bogotá, el Acueducto de Bogotá cuando hace la limpieza en canales y algunos humedales, utiliza las plantas de rápido crecimiento para compostarlas y posteriormente utilizarlas como biofertilizante. Aún con estas medidas, su reproducción es tan rápida que no es suficiente recurrir a este uso, razón por la cual, es necesario encontrar soluciones ambientalmente amigables que ayuden a enfrentar el problema y a la vez puedan beneficiar al ser humano.

Con relación a su actividad antimicrobiana, en 2011, Ahmed M. Aboul-Enein y cols., evidenciaron los efectos de los extractos de *Eichhornia crassipes* como antimicrobiano, antifúngico y posible antioxidante, encontrando nueve fracciones activas y varios compuestos (Aboul-Enein *et al.*, 2011).

Posteriormente, Vivot y cols., en 2012, estudiaron la flora acuática nativa de la provincia de Entre Ríos, encontrado en el caso de *Eichhornia crassipes*, susceptibilidad frente a *Staphylococcus aureus* (Vivot, Sánchez C, Cacik & Sequin, 2012).

Asimismo, Silva y cols., realizaron un trabajo en donde caracterizaron extractos polares y lipofílicos con raíces, tallos, hojas y flores de *Eichhornia crassipes*. Los investigadores encontraron que las hojas y los tallos eran fuente de stigmasterol y antioxidan-

tes que podrían estar implicados en su rápido crecimiento e invasión de cuerpos de agua (2015).

Luego, Gutiérrez-Morales y cols., realizaron una investigación sobre el efecto de los extractos de hojas de *Eichhornia crassipes*, *Pistacia vera* y *Zizipus amole* contra *Staphylococcus aureus* aislados de conejos y ganado vacuno. Los resultados obtenidos sugieren que el extracto metanólico de las hojas de *P. vera*, *Z. amole* y *E. crassipes* pueden ser utilizados para su posible aplicación en la etnomedicina, particularmente como preparación de medicamentos contra las infecciones estafilocócicas, puesto que se evidenció la biopotencia de estas plantas contra *Staphylococcus aureus* meticilina resistente MRSA presente en ganado vacuno, y *S. aureus* sensible a la oxacilina SOSA (2017).

En la misma línea, Jagathesan y Rajiv realizaron un estudio con nanopartículas de hierro utilizando extracto de *Eichhornia crassipes*. Ellos encontraron que la zona más alta de inhibición se observó a una concentración de $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ de nanopartículas de óxido de hierro mediadas por *Eichhornia* contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas fluorescens*. Las nanopartículas de óxido de hierro (FeNPs) mostraron una buena actividad antibacteriana y los investigadores consideran que podrían ser usados en campos medicinales (2018).

Lemna gibba

Esta planta es conocida como Lenteja de agua, en casi todo el mundo, por su parecido similar al grano de Lenteja que se consume mundialmente; estas son pequeñas plantas acuáticas que forman esteras densas en la superficie del cuerpo de agua (Celis *et al.*, 2008). Se encuentran en diversos ecosistemas acuáticos como lagunas, ríos de flujo lento, y quebrabas (Arroyave, 2004)

Se desarrollan en condiciones eutróficas, esto significa que ocurre un aumento de las concentraciones de fósforo, nitrógeno y otros nutrientes donde prevalece la materia orgánica en descomposición (Ramírez, 2004).

Estas macrofitas son consideradas como plagas en ecosistemas acuáticos. Sin embargo, si se implementan métodos de manejo adecuados, sus propiedades de proliferación, capacidad de absorción de nutrientes y bioacumulación de compuestos tóxicos, pueden permitir soluciones en los tratamientos de aguas residuales, convirtiéndolas en una herramienta natural para el mejoramiento de ecosistemas contaminados (Arenas, Marcó & Torres, 2011).

Su distribución geográfica es universal, está presente en varias regiones de los hemisferios norte y sur, ubicada en charcos de agua dulce, ciénagas, lagos y ríos calmados (Ramírez, 2004).

Gracias al crecimiento exorbitado que tiene en los diferentes cuerpos de agua, su biomasa es aprovechable en el tratamiento de aguas residuales en sistema de humedales naturales, ya que puede crecer en condiciones adversas. Adicionalmente, tiene la capacidad de absorber dentro de su estructura nitrógeno y fósforo disminuyendo estos dos elementos del agua, coadyuvando a la descontaminación de las aguas (Ramírez, 2004; Canales, 2010).

En la actualidad se está trabajando intensamente en sistemas de tratamiento de aguas residuales con plantas acuáticas que se encuentran presentes en estos espacios contaminados evaluando su capacidad de remoción de patógenos como Coliformes totales y *E. coli* (Valderrama, 2005).

En Perú, un estudio realizado por Ángel Canales determinó la problemática ambiental que se encuentra presente en el Lago Titicaca, debido al aumento de eutrofización que surge a causa de un aumento en la entrada de aguas residuales al lago. Por esta situación, hay un crecimiento de un organismo vegetal que lo denomina el autor **Lemna gibba**, comúnmente conocida como

Lenteja de agua; la problemática radica en que la presencia y el aumento de ese organismo está generando daños ecológicos. La reproducción exagerada de esta planta acuática y el cubrimiento de la superficie del lago, generan una disminución de la capacidad fotosintética de las especies autóctonas como algas, fitoplancton y también microorganismos depuradores de contaminantes presentes en el lago. La biomasa de *Lemna gibba* impide el contacto entre la luz solar y las especies fotosintéticas. En desacuerdo con el autor que se refiere a este organismo como “ente negativo” y que debe ser eliminado, se propone una mejor solución en cuanto al manejo de la biomasa (2010).

Además, en estudios realizados por Machado L. y cols. se evalúan técnicas experimentales que surgen de la problemática en cuanto al aumento de la biomasa de *Lemna spp.* y su posible eliminación; ellos describen una forma de utilizar esta biomasa con el fin de obtener un beneficio mayor y no eliminarla como lo nombran muchos autores; la solución radica en el potencial nutritivo que tiene este organismo acuático para ser una excelente fuente de alimento para la Lombriz roja (*Eisenia andrei*), aumentando su desarrollo biológico y abriendo puertas en la lombricultura (2010).

Otras alternativas utilizadas por investigadores del campo acuícola, es la utilización de *Lemna gibba* como fuente primaria de alimento para peces en industrias de producción alimentaria, gracias a sus características únicas, y su fácil y rápido crecimiento, no necesitan fertilizantes ni tratamientos y poseen un alto valor nutritivo (Ponce, Febrero, Gonzalez, Romero & Estrada, 2005).

Kiran probó cuatro plantas acuáticas (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Salvinia rotundifolia* y *Lemna minor*) y evaluó la remoción de nitrógeno y fósforo. Se demostró el alto potencial de estas plantas acuáticas para la remoción de nitrógeno y fósforo, reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno DBO y la Demanda Química de Oxígeno DQO (1991).

Adolfo D. y cols. evaluaron la capacidad biorremediadora de *Lemna minor* en aguas residuales contaminadas con mercurio, observando que la biomasa presente de este organismo, aunque no disminuyó, desarrolló una tolerancia y adaptación al medio contaminado. Los datos señalan una remoción del mercurio en el agua del 30%. Por esta razón, puede servir como herramienta efectiva, sencilla y económica en los procesos de descontaminación del agua con niveles tóxicos de mercurio (Arenas, Marcó & Torres, 2011).

Con relación a la actividad antimicrobiana, en el año 2019, Mohamed y sus cols. realizaron un trabajo con extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* como alternativa para realizar un tratamiento a papel histórico y preservarlo contra la acidificación, oxidación y contaminación por hongos. El experimento consistió en realizar extractos etanólicos de las dos plantas e impregnarlo a un sustrato de celulosa, cada extracto en forma independiente. Los resultados evidenciaron que los dos extractos son una nueva alternativa de origen natural para una eficaz desacidificación sinérgica, antioxidación, antirradical, quelación de metales y tratamiento fungicida de papel histórico (Mohamed, Mansour & Salem, 2019).

Conclusiones

Debido a la característica especial de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* de tener una rápida reproducción en los cuerpos de agua y ser un problema para que ecosistemas como lagos y humedales se mantengan estables y no pierdan sus niveles de oxígeno e intercambio gaseoso, es importante encontrar un uso eficiente a la biomasa que permita minimizar el impacto ecológico y se aproveche como recurso natural en Bioprospección.

La *Eichhornia crassipes* y la *Lemna gibba* son una alternativa biológica novedosa para el ámbito de la salud humana, animal y de las plantas, por la diversidad de compuestos químicos que tienen y que hace posible su uso como antimicrobiano.

Referencias bibliográficas

About-Enein, A., Al-Abd, A., Shalaby, E., Abul-Ela, F., Nasr-Allah, A., Mahmoud, A. & El-Shemy, H. (2011). *Eichhornia crassipes* (Mart) solms. From water parasite to potential medicinal remedy. *Plant Signaling & Behavior*, 6 (6), 834-836. Disponible en <https://doi.org/10.4161/psb.6.6.15166>

Arenas, A., Marcó, L. & Torres, G. (2011). Evaluación de la planta *Lemna minor* como biorremediadora de aguas contaminadas con mercurio. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 2 (3), 1-11. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/3236/323627683001.pdf>

Arévalo, A., Rodríguez, Y. & Vivas, L. (2016). *Evaluación del rol de Lelliottia amnigena en tubérculos de papa, variedad parda pastusa con signos de pudrición blanda*. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Arroyave, M. (2004). La lenteja de agua (*Lemna minor* L): una planta acuática promisorio. *Revista EIA* (1), 33-38. Disponible en http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372004000100004

Bennet, J., Dolin, R. & Blaser, M. (2015). *Mandell, Douglas y Bennet: Enfermedades infecciosas: Principios y Práctica*. Madrid: Elsevier.

Canales, A. (2010). Evaluación de la biomasa y manejo de *Lemna gibba* (Lenteja e agua) en la bahía interior del lago Titicaca, Puno. *Ecología Aplicada*, 9 (2), 91-99. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v9n2/a04v9n2.pdf>

Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W. & Cuca, I. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia piperácea. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26 (1), 97-106. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/13923>

Corporación Andina de Fomento CAF (2005). *Biotecnología para el uso sostenible de la biodiversidad. Capacidades locales y mercados potenciales*. Caracas: Corporación Andina de Fomento. Disponible en <http://publicaciones.caf.com/media/1275/99.pdf>

Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca CAR (2011). *Humedales del territorio CAR consolidación del sistema de humedales de la jurisdicción CAR*. Bogotá: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca - CAR. Disponible en <http://hdl.handle.net/20.500.11786/33709>

Duarte, O. & Velho, L. (2008). Análisis del marco legal en Colombia para la implementación de prácticas de bioprospección. *Acta Biológica Colombiana*, 13 (2), 103-122. Disponible en: doi:10.15446/abc

Español, W. (2017). *Bioprospección y Conocimiento tradicional en Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Disponible en <http://bdigital.unal.edu.co/64359/1/2018-06-11%20Tesis%20Final%20Bioprospecci%C3%B3n%20y%20CT.pdf>

Farfán, L., Benítez, S. & Hoyos, L. (2014). Sensibilidad de bacterias procedentes de pasifloras a antibióticos y productos cúpricos". *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8, 20-33. Disponible en doi:10.17584/rcch.2014v8i1.2797

Fariñas, M. & Martínez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*, 31 (6), 402-409. Disponible en doi:10.1016/j.eimc.2013.03.016

Forsberg, K., Patel, S., Gibson, M., Lauber, C., Knight, R., Fierer, N. & Dantas, G. (2014). Bacterial phylogeny structures soil resistomes. *Nature*, 509, 612-630. Disponible en doi:10.1038/nature13377

Fuentes, C. & Romero, C. (1991). Una visión del problema de las malezas en Colombia. *Agronomía Colombiana*, 8 (2), 364-378. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/21127/22092>

Gómez, H. (2012). *Análisis de la mitigación del impacto ambiental en el lago parque Florida, por fitorremediación usando Buchón de agua*. Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada. Disponible en <https://repository.unimilitar.edu.co/handle/10654/7129>

Gulcin, I., Kirecci, E., Akkemik, E. & Topal, F. (2010). Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: Duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turk Journal Biology*, 34, 175-188. Disponible en doi:10.3906

Gutiérrez-Morales, A., Velásquez, V., Khusro, A., Salem, A., Estrada, M., Salem, M., . . . Burrola, C. (2017). Anti-staphylococcal properties of *Eichhornia crassipes*, *Pistacia vera*, and *Ziziphus amole* leaf extracts: Isolates from cattle and rabbits. *Microbial Pathogenesis* (113), 181-189. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.015>

Jagathesan, G. & Rajiv, P. (2018). Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Eichhornia crassipes* leaf extract and assessing their antibacterial activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 90-94. Disponible en doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.014>

Jechalke, S., Heuer, H., Siemens, J., Amelung, W. & Small, K. (2014). Fate and effects of veterinary antibiotics in soil. *Trends in Microbiology*, 22 (9), 536-545. Disponible en doi:10.1016/j.tim.2014.05.005

Jorgensen, J. (1997). Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, 11 (4), 785-802. Disponible en doi:10.1016

Kiran, M., Srivastava, J. & Tripathi, B. (1991). Capacidad de retiro del nitrógeno y el fósforo de cuatro plantas elegidas en las charcas de aguas dulces tropicales. *Diario Conservación ambiental*, 18, 143-147.

Leite-Martins, L., Mahu, M., Costa, A., Mendes, A., Lopes, E., Medonca, E., . . . Da Costa, A. (2014). Prevalence of antimicrobial resistance in enteric *Escherichia coli* from domestic pets and assessment of associated risk markers using a generalized linear mixed model. *Preventive Veterinary Medicine*, 117 (1), 28-39. Disponible en doi:10.1016

Lindsay, N. (2001). *Infection control programmes to contain antimicrobial resistance*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud OMS. Disponible en https://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/infection_control.pdf

López-Avila, K., Dzúl-Rosado, K., Lugo-Caballero, C., Arias-Leon, J. & Zabala-Castro, J. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista Biomedica*, 127-136. Disponible en <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2016/bio163e.pdf>

Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. & De Poorter, M. (2000). *100 of the world's worst invasive alien species : a selection from the Global Invasive Species Database*. (I. S. ISSG, Ed.) Auckland, New Zealand: Fondation D'Enterprise TOTAL. Disponible en <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/2000-126.pdf>

Machado, L., Urdaneta, S., Hernandez, J., Abreu, A. & Marmol, L. (2010). La Lenteja de agua (*Lemna* sp), en el comportamiento biológico de la lombriz roja (*Eisenia andrei*). *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia*, 27 (4), 545-558. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3661490>

Mejía, W., Calatayud, D., Zapata, D., Quintero, A., Sánchez, D. & Mateu, E. (2008). Sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de salmonella aisladas en granjas porcinas del estado Zulia. *Revista Científica*, 674-681. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95911659005>

Menéndez, P., Díaz, J., Silva, E., González, P., Moreno, E., Amaya, P.,... Sáenz, E. (2005). Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. *Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*, 34 (2), 193-208. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcc-quifa/article/view/9192/9828>

Ministerio de salud y protección social (2018). *Plan Nacional de respuesta a la resistencia a los antimicrobianos. Plan estrategico*. Bogotá: Ministerio de salud y Protección Social. Disponible en <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/MET/plan-respuesta-resistencia-antimicrobianos.pdf>

Mohamed, W., Mansour, M. & Salem, M. (2019). Lemna gibba and Eichhornia crassipes extracts: Clean alternatives for deacidification, antioxidation and fungicidal treatment of historical paper. *Journal of Cleaner Production*, 219, 846-855. Disponible en [doi:https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.02.097](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.02.097)

Morio, F., Hare, R., Le Pape, P. & Cavling, M. (2017). Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50 (5), 599-606. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.05.012>

Organización Mundial de la Salud (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf?sequence=1>

Organización Mundial de la Salud OMS (2001). *Estrategia Mundial para contener la Resistencia a los antimicrobianos*. Suiza: Organi-

zación Mundial de la Salud. Disponible en http://www.antibioticos.mscbs.gob.es/PDF/resist_OMS_estrategia_mundial_contra_resistencias.pdf

Ponce, J., Febrero, I., González, R., Romero, O. & Estrada, O. (2005). Perspectivas de la *Lemna* sp. para la alimentación de peces. *Revista Electronica de Veterinaria*, VI (3), 1-6. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612812009>

R, A., Groundwater, P., Todd, A. & Wonsley, A. (2012). *Antibacterial Agents: Chemistry, Mode of Action, Mechanisms of Resistance and Clinical Applications*. London: John Wiley & Sons. Disponible en doi:10.1002/978111832542

Ramirez, A. (2004). *La Lenteja de Agua - Lemna - en el Lago de Maracaibo*. Maracaibo: Planigestión. Disponible en <https://studylib.es/doc/4718024/la-lenteja-de-agua---lemna---en-el-lago-de-maracaibo>

Rojas, N., Avellaneda, S. & Cuellar, A. (2010). Plantas utilizadas en la medicina tradicional en Tierra Caliente, México para el tratamiento de enfermedades infecciosas. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 2, 124-136. Disponible en <https://doi.org/10.24188/recia.v2.n1.2010.337>

Saga, T. & Yamaguchi, K. (2009). History of Antimicrobial Agents and Resistant. *JMAJ*, 52 (2), 103-108. Disponible en http://www.med.or.jp/english/pdf/2009_02/103_108.pdf

Sang Gyu, K., On-Sook, H., Na-Young, R., Ho-Cheol, K., Ju-Hee, R., Jung, S., . . . Hyung, J. (2016). Evaluation of Resistance to *Ralstonia solanacearum* in Tomato Genetic Resources at Seedling Stage. *The Plant Pathology Journal*, 32 (1), 58-64. Disponible en doi:10.5423/PPJ.NT.06.2015.0121

Saslis-Lagoudakis, C., Savolainen, V., Williamson, E., Forest, F., Wagstaff, S., Baral, S., . . . Hawkins, J. (2012). Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 15835-40.

Sasmaz, M., Obek, E. & Sasmaz, A. (2019). Bioaccumulation of cadmium and thallium in Pb-Zn tailing waste water by. *Applied Geochemistry*(100), 287-292. Disponible en doi:10.1016

Shanab, S., Shalaby, E., Lightfoot, D. & El-Shemy, H. (2010). Allelopathic Effects of water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *PLoS One*, 5 (10), 1-8. Disponible en doi:10.1371

Silva, R., De Melo, M., Silvestre, A. & Silva, C. (2015). Polar and lipophilic extracts characterization of roots, stalks, leaves and flowers of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), and insights for its future valorization. *Industrial Crops and Products*, 76, 1033-1038. Disponible en doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.055

Stuart, L. (1992). *The Antibiotic Paradox*. Boston: Springer. Disponible en https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1007/978-1-4899-6042-9

Vahedi-Shahandashti, R. & Lass-Flörl, C. (2019). Antifungal resistance in *Aspergillus terreus*: A current scenario. *Fungal Genetic and Biology*, 1-18. Disponible en doi:10.1016/j.fgb.2019.103247

Valderrama, L. (2005). Evaluación del efecto del tratamiento con plantas acuáticas (*E. crassipes*, *Lemna* sp y *L. laevigatum* en la remoción de indicadores de contaminación fecal en aguas residuales domésticas. *Seminario Internacional sobre métodos naturales para el tratamiento de aguas residuales*. Cali: Instituto Cinara, 193-201. Disponible en http://www.ingenieroambiental.com/4014/residuaa.pdf

Velásquez, V., Gutiérrez, A., Khusro, A., Salem, A., Estrada, M., Valladares, B. & Burrola, C. (2017). Anti-staphylococcal properties of *Eichhornia crassipes*, *Pistacia vera*, and *Ziziphus amole* leaf extracts: Isolates from cattle and rabbits. *Microbial Pathogenesis*, 113, 181-189. Disponible en doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.015

Vivot, E., Sánchez C, Cacik, F. & Sequin, C. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Ar-

gentina). *Ciencia Docencia y Tecnología* (45), 165-185. Disponible en <https://www.nedalyc.org/articulo.oa?id=14525317008>

Wendlandt, S., Shen, J., Kadlec, C., Wang, Y., Zhang, L., Febler, A.,... Schwarz, S. (2015). Multidrug resistance genes in staphylococci from animals that confer resistance to critically and highly important antimicrobial agents in human medicine. *Trends in microbiology*, 23 (1), 44-54. Disponible en doi:10.1016

Yong, A., Ooh, K., Ong, H., Chai, T. & Wong, F. (2015). Investigation of antibacterial mechanism and identification of bacterial protein targets mediated by antibacterial medicinal plants extracts. *Food Chemistry*, 32-36. Disponible en doi:10.1016/j

Capítulo 4

Detección de *treponema pallidum* subespecie *pallidum* en muestras clínicas para el diagnóstico de sífilis congénita mediante la utilización de variantes de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

Milena P. Barbosa

Brigete S. González*

Jeannette Navarrete Ospina

Liliana Muñoz Molina

Gladys Pinilla Bermúdez**

Resumen

La sífilis es una enfermedad sistémica de transmisión sexual, sanguínea, y vertical causada por la espiroqueta *Treponema pallidum subsp pallidum*, que se desarrolla en etapas agudas asintomáticas o sintomáticas y, si no es detectada y tratada oportunamente, puede llegar a producir infecciones crónicas con secuelas y discapacidades considerables. La sífilis congénita es un importante problema de salud pública en Colombia, ya que puede conllevar a

* Grupo REMA Programa de Bacteriología y laboratorio Clínico Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

** Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

padecer una condición con consecuencias graves y un alto costo humano, social y económico para los pacientes.

En el presente estudio, por medio de variantes de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR tr y PCR tr-sonda Taqman), se evaluó la presencia del gen *TpN47* en muestras clínicas para identificar *Treponema pallidum subsp pallidum* en el diagnóstico de sífilis congénita, y de esta forma validar la utilización de este gen, comparar la sensibilidad y especificidad de estas variantes y correlacionar los resultados obtenidos con el origen y tipo de muestra.

De las 27 muestras procesadas de sangre total periférica y suero de gestantes y neonatos, sangre de cordón umbilical y líquido cefalorraquídeo, el 48,14% arrojaron resultados positivos para la PCR tr y el 81,48% para PCR tr-Taqman en comparación con la técnica serológica VDRL con una especificidad del 100% para ambas variantes. El límite de detección para la PCR tr y PCR tr-Taqman fue de 4,5 fg y 1,14 fg respectivamente.

Se puede concluir que el gen *TpN47* es una diana molecular promisionaria y la variante PCR tr-Taqman es una herramienta valiosa para el diagnóstico de sífilis congénita que minimiza tanto los falsos negativos como positivos de las técnicas serológicas.

Palabras clave: Sífilis, Sífilis congénita, *Treponema pallidum subsp. pallidum*. PCR tr, *TpN47*, sonda Taqman, VDRL.

Introducción

La sífilis es una infección causada por la espiroqueta *Treponema pallidum subsp pallidum*, de distribución mundial, que afecta anualmente a 12 millones de personas, con una alta tasa de morbilidad y mortalidad. Esta infección es un grave problema cuando ocurre

en estado de embarazo, ocasionando sífilis gestacional (SG), debido a que se transmite fácilmente al feto es decir, sífilis congénita (SC) causa de graves complicaciones hasta en el 81% de los casos (Giraldo, 2015).

Debido a que el agente etiológico de la sífilis, no se puede cultivar en medios tradicionales, el diagnóstico de laboratorio se hace normalmente por métodos directos, como la detección del microorganismo en muestras clínicas por microscopía de campo oscuro; o por métodos indirectos, como pruebas serológicas; no obstante, éstas últimas carecen de sensibilidad y especificidad, y no proporcionan una caracterización adicional de las cepas bacterianas implicadas. Por tanto, los estudios moleculares pueden considerarse métodos complementarios para el diagnóstico certero de la infección por sífilis, ya que también pueden proporcionar información de tipificación y susceptibilidad a los antibióticos (Martin, 2009).

La tecnología de ADN recombinante ha permitido la purificación de antígenos treponémicos como el *TpN15*, *TpN17*, *TpN47* y *TmpA*, su clonación y expresión han permitido el desarrollo de pruebas inmunológicas y moleculares como la PCR. Estos antígenos han sido utilizados como dianas moleculares en diferentes estudios para la identificación de *Treponema pallidum subsp pallidum* en diferentes especímenes biológicos (Sanguineti, 2000 y 2004).

En el presente estudio se evaluó la utilidad clínica de la PCR tr utilizando el gen *TpN47*, que codifica una proteína integral de membrana e inmunógeno dominante de *Treponema pallidum subsp pallidum*, ya que, en estudios previos dicho gen arrojó resultados promisorios en la detección del agente etiológico de la sífilis con 78,4% de sensibilidad. Además, se contó con la utilización de la sonda taqman 47 REMA con el objeto de aumentar la sensibilidad y especificidad de esta técnica molecular para luego comparar los resultados de las dos variantes de PCR tr.

Diseño metodológico

Tipo de estudio

Descriptivo correlacionar.

Muestras

Se analizaron 27 muestras provenientes de mujeres gestantes y neonatos con diagnóstico presuntivo de sífilis, estas muestras fueron otorgadas por hospitales de tercer nivel de la ciudad de Bogotá y corresponden a muestras de sangre total periférica, suero, sangre de cordón umbilical y líquido cefalorraquídeo (LOR). Para la extracción de ADN, se realizó un pre tratamiento con Proteinasa K a concentración final de 2 ug/ul, posteriormente se siguieron las indicaciones suministradas en el kit UltraClean® Blood spin DNA isolation kit MOBIO.

Controles

Como control positivo se utilizó exudado de testículo de conejo infectado con la cepa control Nichols, de la bacteria *Treponema pallidum subsp pallidum*. Esta muestra fue proporcionada por el Departamento de Inmunopatología de sífilis de la Universidad de Washington, Seattle, USA. Los exudados fueron resuspendidos en Buffer de lisis 2X (Tris 10mM pH 8.0, SDS 0,5% y EDTA 0.1M pH 8.0).

Como control negativo se utilizó muestras de sangre de pacientes sin sospecha clínica de sífilis y con VDRL no reactivos y agua ultrapura.

Por medio de PCR convencional se desarrolló el control endógeno de extracción: al ADN humano proveniente de las muestras clínicas y al ADN de *Treponema pallidum subsp pallidum* provenien-

te de testículo de conejo, se les realizó PCR con primers dirigidos al gen beta actina y al gen *TpN47* respectivamente.

Para el control Interno de Amplificación se realizó infección in vitro con 2 ul de ADN de *Treponema pallidum subsp pallidum* a muestras clínicas que arrojaron resultados negativos para cada una de las variantes de la PCR.

Como control Exógeno se utilizó ADN recombinante (gen *TpN47*). Este ADN fue utilizado como patrón para realizar la curva de calibración para cada una de las variantes de PCR. Para su extracción se siguieron las especificaciones del kit UltraClean 6 minutes mini plasmid prep kit MOBIO. Posteriormente, se verificó la integridad del ADN por electroforesis y se realizó cuantificación por espectrofotometría nanodrop.

PCR Convencional

Mediante PCR convencional se establecieron los parámetros y las concentraciones óptimas de los reactivos que serían utilizados posteriormente (Titulación de primers, de ADN y de $MgCl_2$).

Ensayo de sensibilidad por PCR convencional.

Se realizaron 5 diluciones seriadas en base 10 del ADN plasmídico partiendo de una cantidad de ADN de 45,4 ng.

PCR en tiempo real (PCR tr)

Para la detección del gen *TpN47* por PCR tr se usó el kit GoTaq qPCR Master Mix de Promega y se llevó a cabo en el Termociclador iQ5 (BioRad).

Curva de Calibración para PCR tr

Se realizaron 8 diluciones seriadas en base 10 de ADN plasmídico partiendo de una cantidad inicial de ADN de 45,4 ng. Se realizó el montaje correspondiente en el equipo IQ5, y se utilizó como

agente intercalante el SYBR® Green 1X. Esta curva se realizó con el objeto de conocer, mediante regresión lineal la cantidad aproximada de ADN inicial que tienen las muestras experimentales.

Ensayo de sensibilidad en PCR tr

La sensibilidad de la técnica se determinó realizando 8 diluciones seriadas en base 10 del ADN plasmídico con una cantidad inicial de 45,4 ng; de esta forma, se conoció cuál es la mínima cantidad de ADN que detectó la técnica.

Ensayo de especificidad en PCR tr

Se realizó análisis bioinformático para corroborar la no complementariedad de los primers con bacterias filogenética y clínicamente relacionadas con *Treponema pallidum subsp pallidum* (*Treponema denticola*, *Treponema pallidum subsp pertenue*, *Borrelia burgdorferi*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Haemophilus ducreyi*). Adicionalmente, se realiza amplificación por PCR tr con ADN de bacterias de importancia clínica como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, y *Klebsiella spp.*

PCR en tiempo real con sonda 47 rema (PCR tr-Taqman)

Para la detección del gen *TpN47* por PCR tr se utilizó una sonda taqman diseñada por Pinilla *et al.* (artículo en publicación), denominada 47 REMA y se llevó a cabo en el Termociclador iQ5 (BioRad).

Curva de Calibración para PCR tr-Taqman

Se realizaron 9 diluciones seriadas en base 10 de ADN plasmídico con una cantidad inicial de 113,5 ng. Se realiza el montaje correspondiente en el equipo IQ5, y se utilizó el kit TaqMan Universal PCR Master Mix. Esta curva se realizó con el objeto de conocer,

mediante regresión lineal la cantidad aproximada de ADN inicial que tienen las muestras experimentales.

Ensayo de sensibilidad en PCR tr-Taqman

Se realizaron 9 diluciones seriadas en base 10 del ADN plasmídico con una cantidad inicial de ADN de 113,5 ng, utilizando la sonda taqman 47 REMA; y saber cuál es la mínima cantidad de ADN que detectó la técnica.

Ensayo de especificidad en PCR tr-Taqman

Se realizó análisis bioinformático y amplificación por PCR tr-Taqman con ADN de bacterias de importancia clínica, tal como ya se mencionó.

Resultados

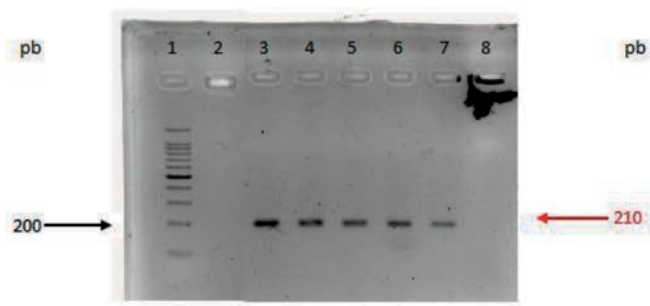
PCR Convencional

Por medio de la PCR convencional se establecen los parámetros y condiciones óptimas de los reactivos para llevar a cabo los experimentos posteriores por PCR tr y PCR tr Taqman.

Adicionalmente se establece la sensibilidad de la PCR convencional para la detección del gen *TpN47* para compararla luego con las sensibilidades obtenidas por PCR tr y PCR tr Taqman.

Ensayo de sensibilidad por PCR convencional

La sensibilidad alcanzada en la PCR convencional para detectar la presencia del gen *TpN47* fue del orden de los picogramos, el límite de detección de esta técnica molecular fue de 4,54 pg.



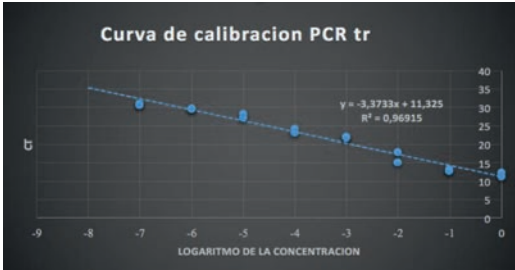
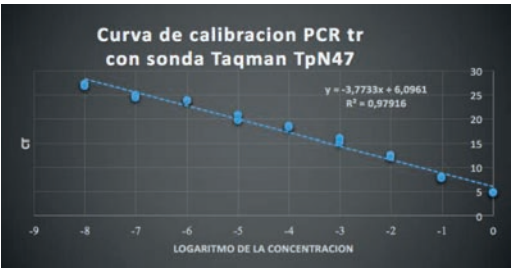
Ensayo de sensibilidad por PCR convencional

Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% *Carril 1*. Marcador de peso molecular 100bp BIOLINE *Carril 2*. Control negativo agua ultra pura *Carril 3*. ADN puro 45400 pg *Carril 4*. 4540 pg *Carril 5*. 454 pg *Carril 6*. 45,4 pg *Carril 7*. 4,54 pg *Carril 8*. 0,454

PCR en tiempo real (PCR tr) y PCR en tiempo real con sonda (PCR tr Taqman 47 REMA)

Curva de Calibración

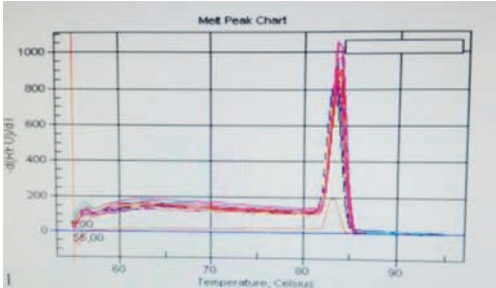
PCR tr	PCR tr Taqman 47 REMA
8 Diluciones seriadas de ADN plasmídico con una cantidad inicial de 45,4 ng.	9 Diluciones seriadas de ADN plasmídico con una cantidad inicial de 113,5 ng.

	
Ct vs Logaritmo de la concentración del ADN plasmídico.	Ct vs Logaritmo de la concentración del ADN plasmídico.
Se obtuvo una eficiencia del 96%, valor de Coeficiente de correlación (R2) de 0.96 y una pendiente de -3,373, estos valores proporcionan información sobre el comportamiento de la reacción, una vez obtenidos estos resultados, se realizaron los montajes con las muestras clínicas.	Se obtuvo una eficiencia del 96% valor de Coeficiente de correlación (R2) de 0.97 y una pendiente de -3,7733.

Ensayo de sensibilidad

PCR Convencional	PCR tr	PCR tr Taqman
La sensibilidad alcanzada en la PCR convencional para detectar la presencia del gen TpN47 fue del orden de los picogramos, el límite de detección de esta técnica molecular fue de 4,54 pg.	Se determinó que la sensibilidad de la técnica de PCR tr para detectar la presencia del gen TpN47 es del orden de los femtogramos. Esta técnica detectó 4,5 fg de ADN recombinante de Treponema pallidum subsp pallidum.	El límite de detección de esta técnica fue 1,135 fg de ADN recombinante de Treponema pallidum subsp pallidum.

Ensayo de Especificidad

PCR tr	PCR tr Taqman
La especificidad de los primers TpN47 en los montajes experimentales fue del 100%, ya que no hubo amplificación del ADN de bacterias de importancia clínica tanto Gram positivas como Gram negativas. La especificidad de estos primers también se corroboró con el análisis bioinformático utilizando como plantilla ADN de bacterias filogenética y clínicamente relacionadas.	La especificidad de los primers y de la sonda Taqman, alcanzada en los montajes experimentales con la técnica de PCR tr-Taqman es del 100%, igual a lo descrito para PCR tr.
 Curva melting del ensayo de especificidad por PCR tr. Se observa la disociación de las cadenas de ADN de Treponema pallidum subsp pallidum a una temperatura de 82°C. No se observan picos inespecíficos.	

Controles Negativos

PCR tr	PCR tr Taqman
Todas las muestras procesadas consideradas negativas, sin sospecha clínica de sífilis y con resultados de VDRL no reactivas, arrojaron valores de Ct por encima de 32, los cuales son interpretados como negativos para PCR tr.	Las muestras procesadas consideradas negativas, arrojaron valores de Ct por encima de 30, las cuales son interpretados como negativos.

Control Interno de Amplificación

PCR tr	PCR tr Taqman
Se logró la amplificación de todas las muestras infectadas en el laboratorio usando como blanco el gen TpN47. Cabe resaltar que las muestras infectadas en el laboratorio usadas en este ensayo, corresponden a las que inicialmente arrojaron resultados negativos con la técnica de PCR tr. Las muestras 001, 004, 006 y 012 fueron infectadas con 2 uL de ADN de Treponema pallidum subsp pallidum.	Las muestras infectadas en el laboratorio usadas en este ensayo, corresponden a las que inicialmente arrojaron resultados negativos con la técnica de PCR en tiempo real con sonda Taqman Las muestras 001, 003^a, 014 y 018 fueron infectadas con 2 uL de ADN de Treponema pallidum subsp pallidum.

Muestra	Valor de Ct	Muestra	Valor de Ct
Control negativo agua ultrapura	N/A	Control negativo agua ultrapura	N/A
Control negativo agua ultrapura	N/A	Control negativo agua ultrapura	N/A
Muestra 001 infectada en el laboratorio	13,07	Muestra 001 infectada en el laboratorio	11,92
Muestra 004 infectada en el laboratorio	13,60	Muestra 003a infectada en el laboratorio	10,49
Muestra 006 infectada en el laboratorio	12,89	Muestra 014 infectada en el laboratorio	9,92
Muestra 012 infectada en el laboratorio	12,70	Muestra 018 infectada en el laboratorio	10,23
Control positivo	21,09	Control positivo	10,46
Control positivo	21,80	Control positivo	12,27

Muestras clínicas

Número y porcentaje de muestras positivas por técnica

	PCR en Tiempo Real (PCR tr)	PCR en Tiempo Real con Sonda 47 Rema (PCR tr Taqman)
Número de muestras positivas	13/27*	22/27*
Porcentaje	48,14 %	81,48 %

* Número total de muestras analizadas

Se observa un aumento significativo de la sensibilidad de la técnica de PCR tr con el uso de la sonda, ya que del 100% de las muestras procesadas, solo el 48,14% fueron positivas por PCR tr sin sonda, y con el uso de esta, el valor aumenta a un 81,48 %, una diferencia de 9 muestras que corresponde a 33,34%.

Comparación porcentual de resultados positivos según la técnica utilizada y el tipo de muestra

Descripción de las muestras		Cantidad de muestras	Cantidad de muestras		Técnica	
			Muestras positivas por PCR en tiempo Real		Muestras positivas por PCR en tiempo Real con Sonda	
			Cantidad	% según tipo de muestra	Cantidad	% según tipo de muestra
Tipos de muestra	Sangre periférica de mamá	4	4	100	4	100
	Suero de mamá	5	3	60	3	60
	Sangre periférica de neonato	1	0	0	0	0
	Suero de neonato	4	1	25	4	100
	Sangre de Cordón Umbilical	2	0	0	1	50
	Líquido cefalorraquídeo	11	5	45,45	10	90,9
	Total de muestras analizadas	27	13	48,14	22	81,48

Se pudo evidenciar que, de la totalidad de muestras procesadas de sangre periférica de mamá, todas arrojaron resultados positivos con las dos técnicas; del 100% de las muestras de suero de mamá solo el 60% dieron resultados positivos para cada una de las variantes de la PCR, la muestra procesada de sangre periférica de neonato, arrojó resultados negativos para ambas variantes. Del 100% de las muestras de suero de neonatos solo el 25% evidenció resultados positivos por PCR tr, en contraste con un valor del 100% de muestras positivas para la PCR tr-Taqman, este mismo comportamiento se observó en las muestras de sangre de cordón umbilical y muestras de LCR donde los porcentajes aumentaron de 0% a 50% y de 45,45% a 90,9% respectivamente, con lo cual se puede corroborar el aumento de la sensibilidad de esta técnica adicionado el uso de la sonda taqman.

Discusión

Estudios previos del grupo de investigación REMA (Pinilla, 2015, 2018), evaluaron la reacción en cadena de la polimerasa convencional, anidada y en tiempo real, dirigidas a diferentes dianas moleculares. Para el gen *poA* y 16S *ADNr* lograron una sensibilidad del 70% mediante PCR de punto final y para el gen *TpN47* la sensibilidad alcanzada por nPCR y PCR tr fue del 100% y 90% respectivamente, en el mismo estudio se alcanzó especificidades que oscilan entre 70% y 100%. Por lo tanto, la presente investigación pretendió superar estos niveles alcanzados. Mediante PCR convencional dirigida al gen *TpN47* se logró superar la sensibilidad alcanzada por Pinilla y colaboradores, (52 pg), ya que se obtuvo una sensibilidad de 4,5 pg (Pinilla, 2018).

Usando la técnica de PCR, Palmer y colaboradores reportaron un límite de detección de 1 pg de ADN purificado de *Treponema pallidum subsp pallidum* que representa aproximadamente 800 copias del genoma, utilizando como blanco el gen que codifica para la lipoproteína de membrana integral de 47 KDa (Palmer, 2003). En el presente trabajo, haciendo uso de la PCR tr dirigida al gen *TpN47*, este límite de detección fue superado llegando a 0,0045 pg. ó 4,5 fg, lo que indica que con PCR tr se detectó aproximadamente 3,6 copias del genoma; estos resultados se correlacionan con los publicados por Gama en cuyo estudio, utilizando el gen *polA* por PCR tr llegaron a detectar 2,3 copias del genoma, adicionando una sonda taqman (Pinilla, 2015).

En cuanto a la PCR tr se han encontrado sensibilidades que varían según el tipo de muestra y el estadio clínico de la sífilis. Para ensayos realizados en muestras de úlceras, Craig Tipple y colaboradores lograron una sensibilidad de 100% en estadio primario y secundario de esta patología y especificidad de 97,14%. En cuanto a muestras de sangre total, la sensibilidad lograda fue de 34,1 y 57,89% en sífilis primaria y secundaria respectivamente, con especificidad del 100%; además reportan una sensibilidad del 27,7% en muestra de sangre total con respecto a la serología (Tipple, 2011). En cuanto al presente trabajo, la sensibilidad global obtenida por PCR tr con respecto a la serología fue superior, alcanzando un 48,14%; sin embargo, con las muestras de sangre total periférica de gestantes se alcanzó una sensibilidad del 100% (muestras 8,9,10 y 11) confirmando los resultados reactivos de las serologías, es decir, en este caso hubo concordancia entre la técnica serológica y la técnica molecular PCR tr. Como era de esperarse, no hubo concordancia entre la serología y la PCR tr de la muestra clínica de sangre total periférica de neonato (muestra 27), ya que esta última presentó un VDRL reactivo y PCR tr negativa, lo cual reafirma la baja confiabilidad de las técnicas serológicas en el diagnóstico de la sífilis congénita, puesto que el resultado de

la serología constituye un falso positivo, explicado por la presencia de anticuerpos maternos presentes en la circulación sanguínea del neonato en el momento de la toma de la muestra.

Una explicación probable al hecho de que la PCR presente un resultado negativo con una serología previa reactiva, como se evidencia en el estudio de Tipple y corroborado en la presente investigación (Tipple, 2011), puede deberse a la etapa de la sífilis que esté cursando el paciente, a la presencia o no de las espiroquetas en el sitio de muestreo, una sífilis tratada o en el caso de sífilis congénita por la presencia de anticuerpos maternos en circulación neonatal; además, es importante tener en cuenta que las técnicas serológicas como VDRL y RPR, detectan anticuerpos reagínicos y no anticuerpos treponémicos, es decir que estas serologías pueden ser reactivas con otras patologías como sarampión, varicela, hepatitis, mononucleosis infecciosa, lepra, tuberculosis, malaria, enfermedades autoinmunes, drogadicción, embarazo y edad avanzada (Sanguineti, 2000).

En la actualidad existe una gran variedad de sondas de hibridación las cuales garantizan la especificidad de la detección y mejoran la sensibilidad de la técnica, además permiten identificar polimorfismos o mutaciones puntuales (Sánchez, 2011). Dentro de las sondas de hibridación la más utilizada en la detección de *Treponema pallidum subsp pallidum* ha sido sonda de hidrólisis taqman.

Kaihua Chi (2019), demuestra la ventaja clínica de usar sondas de hidrólisis para mejorar la especificidad y sensibilidad de la técnica diagnóstica de PCR tr; cuando hay patologías cuyo agente etiológico está relacionado filogenéticamente con otros microorganismos y cuyas presentaciones clínicas se confunden. Las interpretaciones de sus resultados muestran que las sondas taqman hibridaron específicamente con la plantilla de ADN de la subespecie de *Treponema pallidum* a la que estaban dirigidas (*Treponema pallidum subsp pallidum*, *Treponema pallidum subsp pertenue*, *Treponema pallidum subs endemicum*), lo cual corrobora su alta especi-

ficidad, permitiendo eliminar falsos positivos por las reacciones cruzadas.

En cuanto a la técnica de PCR en tiempo real adicionando el uso de la sonda taqman se obtuvo una sensibilidad del 81,48% con respecto a la serología VDRL, dato que concuerda con los publicados por David Leslie quien con respecto a la serología muestra una concordancia del 95% y una especificidad del 98,40% (Leslie, 2007); este último dato también es concordante con el obtenido en este trabajo, ya que la especificidad alcanzada fue del 100% en las dos variantes de PCR tr; en cuanto al límite de detección en la presente investigación con el uso de la sonda fue de 1,14 fg lo que representa 0,908 copias del genoma aproximadamente. Estos resultados superan los publicados por Gama y colaboradores donde utilizando PCR tr-Taqman dirigida al gen *polA*, alcanzaron una sensibilidad del 100% y un límite de detección de 2 copias del genoma (Gamma, 2017). El hecho de que en el presente estudio se haya superado el límite de detección en comparación con los resultados publicados por Gama puede deberse a que el gen *TpN47*, según datos bibliográficos ha demostrado mejor sensibilidad que el gen *polA* y no al tipo de muestra, ya que Gama utilizó biopsia de piel embebidas en parafina las cuales eran positivas para *Treponema pallidum subsp pallidum* por inmunohistoquímica.

Las muestras 1 y 14 que corresponden a sueros de gestantes, la muestra 18 que corresponde a LCR, la muestra 27 que corresponde a sangre total periférica de neonato y la muestra 3ª que corresponde a sangre de cordón umbilical tuvieron resultados negativos por ambas variantes de la PCR usadas en este estudio, aunque presentaron previamente test serológico (VDRL) reactivo. La disparidad presentada en los sueros de gestantes puede deberse a que la serología fue practicada durante la gestación o en el puerperio, tiempo en el cual pueden aparecer anticuerpos no treponémico o reagínicos por el mismo estado fisiológico mencionado, o también puede deberse a que la madre esté cursando

con otras patologías que producen este tipo de anticuerpos como se ha descrito.

En el caso de las demás muestras que provienen de neonatos, el resultado positivo de la serología puede ser un falso positivo, debido a la transferencia pasiva de anticuerpos maternos.

Haciendo un análisis introspectivo se puede determinar que aunque el límite de detección alcanzado en las dos variantes (PCR tr y PCR tr-Taqman) es muy similar (4,5 fg vs 1,135fg), la totalidad de muestras positivas por PCR tr-Taqman, supera significativamente los resultados positivos de la misma técnica sin el uso de ella, el hecho de que del 100% de las muestras procesadas, sin discriminar su tipo ni origen pase de 48,14% a 81,48% con el uso de la sonda, indicaría que se puede minimizar el margen de error al disminuir la tasa de resultados falsos negativos, lo cual favorece el diagnóstico oportuno especialmente en los neonatos que carecen de signos y síntomas patognomónicos de esta enfermedad.

También se pudo evidenciar que, de la totalidad de muestras de sangre periférica de gestante procesadas, todas arrojaron resultados positivos con las dos técnicas; del 100% de las muestras de suero de mamá solo el 60% arrojó resultados positivos para cada una de las técnicas. La muestra de sangre total periférica de neonato, tuvo resultados negativos para ambas variantes, aunque su test serológico fue reactivo. Del 100% de las muestras de suero de neonatos solo el 25% evidenció resultados positivos por PCR tr, en contraste con un valor del 100% de muestras positivas para esta misma técnica con el uso de la sonda, este mismo comportamiento se pudo observar en las muestras de sangre de cordón umbilical y muestras de LCR donde los porcentajes aumentaron de 0% a 50% y de 45,45% a 90,9% respectivamente, con estos resultados se puede corroborar el aumento de la sensibilidad de esta técnica, adicionado el uso de la sonda taqman. Aunque esta mejora solo se evidenció en las muestras de neonatos, es necesario realizar más experimentos donde se pueden optimizar los

resultados con respecto a las muestras de origen materno; sin embargo, lo anterior no afecta el objetivo del presente estudio, ya que este tenía como finalidad detectar la presencia del ADN de *Treponema pallidum subsp pallidum* en muestras clínicas para el diagnóstico de sífilis congénita.

En estudios previos del grupo REMA las muestras de LCR no habían reportado amplificación debido a la baja carga treponémica; sin embargo, en el presente estudio es importante recalcar que mediante el uso de la técnica de PCR tr-Taqman 10 de las 11 muestras de LCR obtuvieron resultados positivos, llegando a una sensibilidad del 90,9% con respecto a la técnica serológica de VDRL, lo cual demuestra que la sonda es altamente sensible y específica, logrando detectar la presencia del ADN de la espiroqueta en muestras clínicas que usualmente tienen muy baja carga bacteriana. Este resultado es valioso, ya que, en el caso de los neonatos asintomáticos hijos de madres tratadas, un resultado positivo para PCR en este tipo de muestra puede ser la única evidencia de sífilis congénita.

De acuerdo a la literatura reportada, se puede inducir que la mejor muestra a analizar en el diagnóstico de la sífilis primaria es el hisopado de úlceras en piel o mucosas, ya que obtienen altas sensibilidades, lo cual es importante para darle validez a las técnicas de diagnóstico (Palmer, 2003; Tipple, 2011; Sanguineti, 2000); sin embargo, en el presente estudio este tipo de muestra no fue utilizada debido a que los neonatos no presentan úlceras sifilíticas o chancros, ya que la transmisión se lleva a cabo de manera transplacentaria; en este caso, basados en el análisis bibliográfico, se puede deducir que la muestra que mejor sensibilidad reporta para el diagnóstico de sífilis congénita utilizando PCR es el líquido amniótico, demostrando una sensibilidad del 100% como lo informa Grimprel, pero este tipo de muestra en la práctica clínica es difícil de obtener, por lo cual en el presente estudio se muestra

la aplicabilidad de la técnica molecular en muestras con mayor facilidad de obtención (Grimprel, 1991).

La técnica utilizada en esta investigación se convierte en una herramienta diagnóstica valiosa para el control epidemiológico de esta patología, ya que presenta ventajas muy significativas sobre las técnicas serológicas, empezando porque con esta técnica no es necesario considerar el periodo de ventana inmunológico que puede llegar a ser hasta de 3 meses (Heyman, 2009). Además, los anticuerpos transferidos a través de la placenta pueden persistir en un infante hasta los 15 meses de edad, y solo hasta después de los 18 meses de edad, las pruebas serológicas tienen validez para el diagnóstico, es en estos casos donde el diagnóstico se convierte en un reto para el médico, pues las manifestaciones clínicas son nulas en más del 60% de los infantes o pueden presentar hallazgos sutiles no específicos (Singh, 2015).

Finalmente, se puede precisar que el gen *TpN47* es una diana molecular promisoría y la variante de la PCR tr-Taqman es una herramienta valiosa para el diagnóstico de sífilis congénita que minimiza los falsos negativos y positivos de las técnicas serológicas. Una vez estandarizada y validada esta técnica molecular podrá ser implementada en laboratorios clínicos de referencia para diagnosticar oportunamente la sífilis materna y congénita y proporcionar tratamiento adecuado, evitando así, secuelas graves e incluso la muerte neonatal o infantil.

Conclusiones

- Se validó la utilización del gen *TpN47* como diana molecular para detectar la presencia de la espiroqueta *Treponema pallidum subsp pallidum* en muestras clínicas para el diagnóstico de sífilis congénita.

- Se determinó que el límite de detección de la técnica PCR tr y PCR tr-Taqman fue de 4,5 fg y 1,135 fg respectivamente, con especificidades del 100% para ambas variantes.
- Al comparar los resultados obtenidos en la PCR tr y PCR tr-Taqman, se estableció que esta última es significativamente más sensible, ya que de las 27 muestras analizadas; 13 fueron positivas por PCR tr y 22 por PCR tr Taqman, estas 9 muestras representan un 33,34% de diferencia.
- La eficiencia de la variante PCR tr-Taqman se comprobó, comparando sus resultados con los obtenidos en la PCR tr, demostrando mayor número de muestras positivas al usar la sonda taqman; este comportamiento se evidenció en las muestras de suero de neonato, sangre de cordón umbilical y líquido cefalorraquídeo, pasando de 25% a 100%, 0% a 50% y 45,45% a 90,9% respectivamente, resaltando así la sensibilidad que aporta la sonda Taqman a la técnica.
- La validación de esta técnica molecular podrá ser implementada en laboratorios clínicos de referencia para diagnosticar oportunamente la sífilis materna y congénita y proporcionar tratamiento adecuado, evitando así, secuelas graves e incluso la muerte neonatal o infantil.
- La muestra ideal para utilizar en el diagnóstico de sífilis haciendo uso de las técnicas moleculares, depende directamente del estadio clínico de la enfermedad.
- El uso de la sonda Taqman 47 *REMA* aumenta la sensibilidad de la PCR tr en el diagnóstico de sífilis congénita, disminuyendo los falsos positivos y negativos que se generan cuando se usan técnicas serológicas.

Referencias bibliográficas

Chi, K., Danavall, D. & Taleo, F. (2019). Molecular differentiation of *Treponema pallidum* subspecies in skin ulceration clinically suspected as yaws in Vanuatu using real-time multiplex PCR and serological methods. *Am J Trop Med Hyg*, [online] (1), 134-138. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25404075>

Gama, A. & Carrillo C., E. (2017). *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* identification by real-time PCR targetting the *polA* gene in paraffin-embedded samples positive by immunohistochemistry. *International Journal of STD & AIDS*, [online] (13), 1299-1304. Disponible en <https://doi.org/10.1177/0956462417704123>

Giraldo, B., Henao N., D. & Flórez S., M. (2015). Prevalencia de sífilis en una población de gestantes de dos comunidades de un municipio de Colombia. *Biosalud*, [online] (2), 9-18. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v14n2/v14n2a02.pdf>

Grimprel, E., Sánchez, P. & Wendel, G. (1991). Use of polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *Treponema pallidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sera, and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*, [online] (8), 1711-1718. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1761693>

Heyman, R. & van der Helm, J. (2009). Clinical value of *Treponema pallidum* real-time PCR for diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol*, [online] (2), 497-502. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20007388>

Leslie, D. & Azzato, F. (2007). Development of a real-time PCR assay to detect *Treponema pallidum* in clinical specimens and assessment of the assay's performance by comparison with serological testing. *J Clin Microbiol*, [online] (1), 93-96. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17065262>

Martin, I., Gu, W. & Yang, Y. (2009). Resistencia a los macrólidos y tipos moleculares de *Treponema pallidum* causante de sífilis pri-

maria en Shanghai, China. *Clinical Infectious Diseases*, [online] (4), 515–521. Disponible en <https://doi.org/10.1086/600878>

Palmer, H., Higgins, S. & Herring, A. (2003). Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. *Sex Transm Infect.*, [online] (79), 479-483. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1744778/pdf/v079p00479.pdf>

Pinilla, G., Chavarro P., B., Navarrete O., J. & Muñoz M., L. (2015). Determinación de los genes, 16S ADNr, polA, y TpN47, en la detección de *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita. *NOVA*, [online] (24), 17-25. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a02.pdf>

Pinilla, G., Campos, L. & Durán, A. (2018). Detección de *Treponema pallidum* subespecie *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita mediante reacción en cadena de la polimerasa anidada. *Biométrica*, [online] (1). Disponible en <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3740>

Sánchez, J. & Sánchez, A. (2011). *Nuevas aportaciones a la correlación clínico molecular de la catarata senil*. Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca.

Sanguinetti, C. (2000). Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de la sífilis. *Dermatol Perú*, [online] (1). Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v10_sup1/pruebas_lab.htm

Sanguinetti, C. & Rodríguez T. D. (2004). Syphilis diagnosis update. *Dermatol Perú*, [online] (3), 192-199. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/237237932_ACTUALIZACION_EN_EL_DIAGNOSTICO_DE_LA_SIFILIS

Singh, A. & Levett, P. (2015). Canadian Public Health Laboratory Network laboratory guidelines for congenital syphilis and syphilis screening in pregnant women in Canada. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, [online] (26), 23A-28A. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25798162>

Tipple, C., Hanna, M. & Goldmeier, D. (2011). Getting the measure of syphilis: qPCR to better understand early infection. *Sex Transm Infect.*, [online] (6), 479-485. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21752804>

Capítulo 5

Caenorhabditis elegans* cepa transgénica HA759: modelo para estudios de la enfermedad de Huntington con extractos de plantas

Ruth Melida Sanchez Mora
Martha Gómez Jiménez
Adriana Monroy

Resumen

El daño neuronal es causa de las enfermedades neurodegenerativas, que tendrán mayor incidencia por el incremento del promedio de vida durante los últimos años en la población. Estas enfermedades son incapacitantes permanentes y causan pérdida de años saludables. Son un problema de salud pública que ocasiona problemas económicos, por los elevados costos de tratamiento. La Enfermedad de Huntington (EH) es uno de los más severos desórdenes neurodegenerativos. *Caenorhabditis elegans* es un modelo utilizado en neurobiología, la cepa transgénica HA759, presenta un circuito neuronal simple que permite la comprensión de funciones sinápticas y el comportamiento neuronal. Esta revisión muestra como la cepa HA759 es utilizada para el estudio de la EH. El modelo presenta sus neuronas marcadas con la proteína verde

* Grupo y semillero de Biotecnología y Genética UCMC.
Docentes Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
Facultad de Ciencias de la Salud. Programa Bacteriología.

fluorescente (GFP), que permiten una evaluación del tratamiento aplicado y proponer el estudio de nuevos extractos de plantas para ser evaluados y, determinar su efecto neuroprotector y citotóxico.

Introducción

La biotecnología es una ciencia que permite la utilización de sistemas biológicos para producir, mejorar o modificar procesos u otros sistemas vivos, a partir de la aplicación de tecnologías (United Nations Convention on Biological Diversity, 1996). Gracias a estas técnicas ha sido posible el avance en el campo investigativo en modelos como *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), organismo sometido a múltiples mutaciones dentro de su genoma. La modificación en éste, ha arrojado resultados sorprendentes y prometedores para varios campos de la ciencia, mostrando un panorama de avance en áreas como la inmunología, embriología, biología molecular, ingeniería genética y ambiental, entre otras. La obtención de modelos transgénicos ha permitido tener mayor claridad en fenómenos como la longevidad, embriogénesis, reproducción, neuroprotección e inmunidad, entre otros.

C. elegans es un modelo ampliamente utilizado en trabajos de investigación genética básica y aplicada, convirtiéndose en un modelo experimental que brinda muchas ventajas. Es fácil de encontrar en la naturaleza, la anatomía de su cuerpo ayuda a evidenciar cambios internos debido a su transparencia, presenta bajo costo en su manejo, ya que crece y se reproduce en un periodo de 4 días, a temperatura ambiente alimentándose de bacterias (Epstein & Diane, 1995), generando una puesta de huevos de aproximadamente 300, lo cual permite una rápida evaluación (Hope, 1999; Strange, 2006).

Presenta un sistema digestivo conformado por la faringe, la cual está formada por 58 células entre nerviosas, musculares y epiteliales, el intestino atraviesa el largo de su cuerpo y está conformado por 20 células (Strange, 2006). El ciclo de vida es corto, consta del periodo de la fertilización del huevo pasando por la eclosión y posterior a esto los estadios larvarios de L1 a L4. Su vida media está de 15 a 35 días según las condiciones adecuadas para su desarrollo (Epstein & Diane, 1995).

En el campo científico cobra auge la biotecnología mediante elementos sostenibles que no alteren el equilibrio ecológico en el desarrollo de elementos que ayuden a dar solución a problemas neurobiológicos. En este sentido, la cepa transgénica de *C. elegans* HA759, ha sido utilizada para realizar estudios que han permitido evaluar la capacidad neuroprotectora frente a los radicales libres que son un factor predisponente en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas. La presente revisión muestra como la cepa transgénica de *C. elegans* HA759 puede ser utilizada como un modelo en la EH.

Enfermedad de Huntington (EH)

La EH es una condición neurodegenerativa hereditaria, para la cual no existen tratamientos. La disponibilidad del diagnóstico genético temprano hace que sea una enfermedad ideal para la intervención temprana. La creciente comprensión de la patogenia ha llevado a la identificación de nuevas dianas terapéuticas para las cuales se han realizado muchos estudios los cuales buscan encontrar compuestos que permitan mejorar las condiciones del paciente y ofrecer una terapia alternativa, algunos de ellos están ahora en ensayos clínicos.

Epidemiología

La edad promedio de inicio de la EH es de 40 años, seguida de una progresión continua y supervivencia media de 15-20 años (Ghosh & Tabrizi, 2018). La EH juvenil inicia antes de los 21 años, la de inicio tardío después de los 60 años y presentan un fenotipo clínico distinto (Chaganti, McCusker & Loy, 2017; Fusilli *et al.*, 2018). El comienzo y la progresión de la EH en personas jóvenes pueden variar levemente en comparación con los adultos. Algunos de los problemas que, generalmente, se observan en la etapa temprana del curso de la enfermedad son cambios en el comportamiento, pérdida de habilidades físicas o académicas previamente aprendidas, disminución rápida y significativa del desempeño escolar general y problemas de conducta. En cuanto a cambios físicos se observan músculos contraídos y rígidos que afectan la marcha (especialmente, en niños pequeños), cambios en las habilidades motoras finas, que pueden observarse en habilidades como la escritura a mano, temblores o movimientos involuntarios leves y convulsiones, entre otros (Clinic, 1998).

La prevalencia de la EH varía en todo el mundo con hasta diez veces la diferencia entre las regiones geográficas (Rawlins *et al.*, 2016). Los meta-análisis muestran una prevalencia mundial de 2.7 por 100,000 con las tasas más altas en poblaciones occidentales y más bajas entre los asiáticos (Pringsheim *et al.*, 2012; Rawlins *et al.*, 2016). Estas diferencias son atribuidas a tasas de mutación variables que se han reportado (Warby *et al.*, 2011), discrepancias en la verificación de casos, diagnóstico, criterios o incluso las disparidades en los informes, debido a los parámetros durante el diagnóstico (Wexler, 2010), la prevalencia de hecho, ha aumentado en los últimos 50 años en ciertas regiones (Rawlins *et al.*, 2016).

Por lo tanto, el aumento del valor social de una cura, los avances en la comprensión de la patogenia, y la naturaleza inexorable

y devastadora de la enfermedad, ha producido un creciente interés en la investigación de la EH en los últimos años (Rawlins *et al.*, 2016; Warby *et al.*, 2011).

Genética de la EH

La EH es una enfermedad neurodegenerativa que presenta un tipo de herencia mendeliana autosómica dominante. Es causada por una expansión repetida de islas CAG (Citosina-Adenina-Guanina), trinucleótido presente en el exón 1 del gen de la huntingtina (HTT) en el cromosoma 4 (“A novel gene containing...” 1993; Walker, 2007). Este cambio hace que se codifique un tracto de poliglutaminas expandido cerca del extremo amino de la proteína huntingtina (HTT). Se ha demostrado que las longitudes de repetición más largas conducen a enfermedad de inicio de mayor severidad (Andrew *et al.*, 1993). Adicional, a esto los cambios pueden influenciar el inicio y progresión de la enfermedad (Genetic Modifiers of Huntington's Disease, 2015) (figura 1).

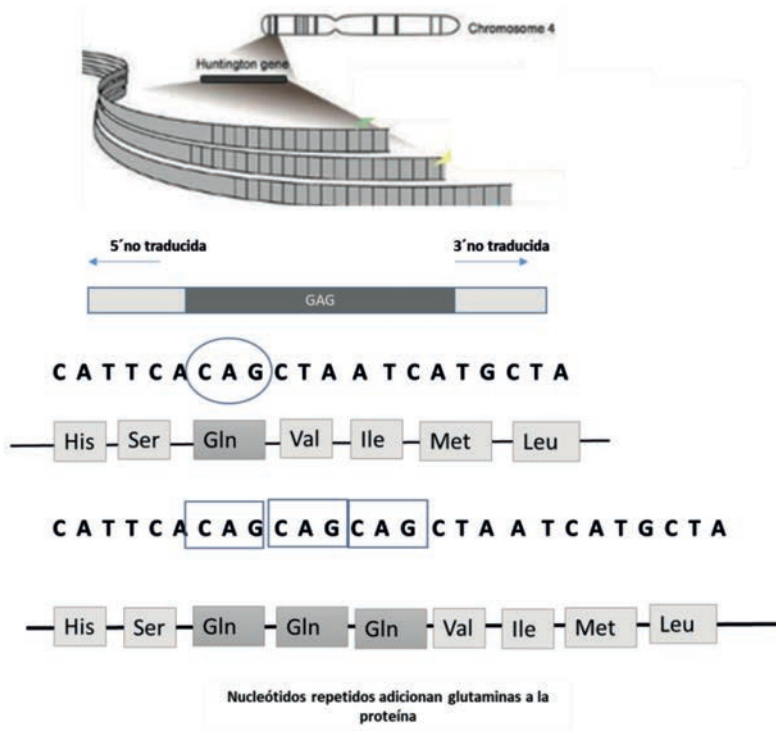


Figura 1. Enfermedad de Huntington. Se muestra la importancia de la repetición de los triplete de CAG que codifican para la glutamina. Tomada y modificada de Samuel Peña Ríos, 2016.

La proteína HTT se expresa de forma ubicua y tiene muchos sitios de interacción, por lo que juega un papel importante como andamiaje, ya que se relaciona con muchas otras proteínas y actúa en diferentes vías celulares (Cattaneo, Zuccato & Tartani, 2005; Zuccato, Valenza & Cattaneo, 2010).

La HTT de tipo salvaje (HTTs) tiene roles en el tráfico vesicular y el reciclaje de proteínas, la coordinación de la división celular, la regulación de la transcripción y es esencial en desarrollo embrionario (Saudou & Humbert, 2016). Como se mencionó, el mutante HTT (mHTT) contiene un tracto de poliglutamina expandido cerca

de la región amino terminal de la proteína. Esto lleva a un error de plegado que desencadena una cascada de procesos patógenos. Estos son impulsados por mHTT al no poder realizar funciones normales, lo que lleva a la acumulación de especies tóxicas de diversas clases y daños en el corte y empalmes de ARNm aberrante, cambios en la traducción y posterior proteolítica escisión de la proteína mHTT (Arrasate & Finkbeiner, 2012; Neueder *et al.*, 2017). Las especies tóxicas de la proteína pueden permanecer en formas monoméricas o como oligómeros o agregados, o en grandes cuerpos de inclusión.

En particular, las transcripciones de mHTT permiten la lectura a través del intrón 1, pero debido a un codón de parada en su inicio, se producen fragmentos del exón 1 que son altamente tóxicos (Landles *et al.*, 2010; Neueder *et al.*, 2017; Sathasivam *et al.*, 2013). Mientras que los agregados tóxicos son considerados distintivos neuropatológicos de la EH (Arrasate & Finkbeiner, 2012), aún no se ha establecido una correlación definitiva, ya que los estudios del modelo de la EH en ratón tienen pérdida neuronal demostrada en ausencia de agregados (Slow *et al.*, 2003) y agregados en la ausencia de disfunción neuronal (Slow *et al.*, 2005).

Curiosamente, las inclusiones intranucleares específicamente, pueden representar un mecanismo de protección celular anti-apoptótico contra mHTT, lo que induce cambios en la expresión (Saudou, Finkbeiner, Devys & Greenberg, 1998). Las neuronas espinosas del medio estriado (NEM) son selectivamente vulnerables a mHTT a través de múltiples mecanismos, que incluyen, entre otros, la pérdida de tróficos de apoyo (en particular, la reducción del factor neurotrófico derivado del cerebro - FNDC), desregulación inmune, disfunción sináptica (excitotoxicidad), homeostasis celular alterada y función mitocondrial alterada (Ghosh & Tabrizi, 2018). Las células neuronales distintas de las NEM también son afectadas, tal vez en menor grado (Shin *et al.*, 2005). mHTT se acumula en las células gliales que conducen a astrocitosis reactiva

y microgliosis que pueden acelerar la atrofia (Sica, 2015). Es importante tener en cuenta que estos mecanismos de enfermedad no son mutuamente excluyentes y son el resultado de procesos celulares profundamente interconectados. Sin embargo, cada mecanismo representa una objetivo terapéutico potencial (Bashir, 2019).

Características clínicas de la EH

En el adulto se presenta predominantemente un movimiento anormal y conocido como corea, al igual que un deterioro cognitivo, cambio psiquiátricos y de comportamiento. Los estudios sobre la progresión de los síntomas motores en la EH muestran que la corea disminuye con el tiempo, mientras que los síntomas hipocinéticos-rígidos aumentan (Jacobs *et al.*, 2016).

Algunos de los trastornos motrices relacionados con la EH comprenden movimientos involuntarios y deterioro en los movimientos voluntarios, como movimientos espasmódicos o de contorsión involuntarios (corea), problemas musculares, como rigidez o contracturas musculares (disonía), movimientos oculares lentos o anormales, marcha, postura y equilibrio afectados y dificultad en la producción física del habla o para tragar. El deterioro en los movimientos voluntarios, a diferencia de los movimientos involuntarios, puede tener un mayor impacto en la capacidad de la persona para trabajar, realizar actividades cotidianas, comunicarse y ser independiente (Clinic, 1998).

Dentro de los trastornos cognitivos se encuentran dificultad para organizarse, establecer prioridades o enfocarse en tareas, falta de flexibilidad o tendencia a quedarse sumido en un pensamiento, conducta o acción (perseveración), falta de control de los impulsos, que puede tener como consecuencia arrebatos, actuar sin pensar y promiscuidad sexual, falta de conciencia sobre las

conductas y habilidades propias, lentitud para procesar pensamientos o “encontrar” palabras y dificultad para aprender información nueva (Clinic, 1998).

Dentro de los trastornos psiquiátricos más frecuentes asociados a la EH está la depresión. También se ha asociado la sensación de irritabilidad, tristeza o apatía, retraimiento social, insomnio, fatiga y pérdida de energía, ideas frecuentes sobre la muerte, el morir o el suicidio. Otros trastornos psiquiátricos frecuentes son el trastorno obsesivo compulsivo, una enfermedad caracterizada por pensamientos recurrentes e invasivos, y conductas repetitivas, manía, que puede ocasionar estado de ánimo elevado, hiperactividad, conductas impulsivas y autoestima excesiva, trastorno bipolar, una afección que se caracteriza por episodios alternos de depresión (Clinic, 1998).

Además de los síntomas ya mencionados, el adelgazamiento es frecuente en las personas que padecen la EH, especialmente, a medida que la enfermedad avanza.

Los pacientes que desarrollarán EH pueden identificarse con pruebas genéticas mucho antes que los síntomas. El inicio o fase pre manifestada, por lo que, en teoría, la intervención en esta etapa podría prevenir o posponer el inicio. A pesar de identificar la mutación genética hace varias décadas (“United Nations Convention on Biological Diversity, 1996), el tratamiento sintomático de la corea sigue siendo la única indicación aprobada en la EH con fármacos como los inhibidores del transportador de monoamina 2 vesicular (VMAT-2) o neurolépticos (Bashir & Jankovic, 2018).

Caenorhabditis Elegans

C. elegans es un nematodo no parásito de vida libre, se encuentra ampliamente distribuido a nivel del mundo, siendo su hábitat natural el suelo, este nematodo se ha convertido en un modelo experi-

mental fácil de mantener, con un periodo de reproducción corto, ya que lo único que necesita para su reproducción y crecimiento son suelos que presenten temperaturas de 20-25°C, oxígeno atmosférico, humedad ambiental y alimento; se alimenta principalmente de bacterias y hongos (Hope, 1999; Strange, 2006).

Clasificación taxonómica

C. elegans ha sido estudiado desde los años 60, por Jhon E. Sulston, quien describió todos los linajes celulares de dicho organismo (Strange, 2006). Gracias a sus estudios y a los de otros grupos de investigación, hoy en día se conocen muchas de sus características, dentro de las que se encuentra, su clasificación taxonómica. Según National center of biotechnology information (NCBI) se clasifica taxonómicamente, tal como se describe en la figura 2.



Figura 2. Clasificación taxonómica del nematodo *C.elegans*. Realizada por los autores.

C. elegans por pertenecer al filo nematodo, presenta las características generales del filo, tales como cuerpo cilindroíde, sin segmentación, posee tracto intestinal y una cavidad bucal. Está recubierto de una cutícula, bajo la cual se encuentra la hipodermis, capa con cuatro engrosamientos: un cordón dorsal, 2 cordones laterales y un último cordón ventral (Romero, 1999).

El sistema muscular del nematodo está compuesto por dos tipos de músculos, los especializados y los no especializados. Al primer grupo pertenecen los esofágicos, los intestinales, los copuladores, compresores y dilatadores del ano, entre otros. En el segundo grupo se encuentran los próximos a la hipodermis, entre las áreas de los cordones, para formar una sola capa muscular, indispensable para el movimiento del nematodo (Romero, 1999).

C. elegans presenta dos sexos, el macho y el hermafrodita. Anatómicamente son similares, sin embargo, presentan ciertas variaciones como: el tamaño, es ligeramente más grande el gusano hermafrodita que el macho, el hermafrodita presenta vulva; órgano en el que almacena los huevos. El ano del macho, está situado en la parte ventral del extremo superior del gusano, a diferencia del hermafrodita que se ubica en el centro del cuerpo y sale de la hipodermis ventral (Herman, 2006), la boca del hermafrodita se encuentra ubicada en la punta de la cabeza, y su cola termina en punta, mientras tanto, la cola del macho presenta gran musculatura y le da la forma de un abanico (Herman, 2006). Así mismo, el macho posee 1031 células somáticas, mientras que el hermafrodita presenta 959, el macho presenta primordio, a diferencia del hermafrodita que no lo presenta, además el macho presenta una sola gónada y el hermafrodita dos (Emmons, 2005).

Ciclo de vida de *C. elegans*

El ciclo de vida es corto y empieza con la fertilización del huevo, seguido de su eclosión, tras esta eclosión se genera el estado larvario L1, en dicha etapa el nematodo está en forma de larva, difiere del adulto por la longitud de su cuerpo, ya que en este estadio presenta una longitud de 250 μm , los estadios larvarios, L1 después de la fertilización dura 29 horas, L2, 38 horas, L3, 47 horas, L4, 59 horas tras la fertilización de los huevos. El *C. elegans* adulto tiene una longitud de 1mm, por su tamaño es necesario usar un microscopio para observar detenidamente su morfología. Presenta movimientos sinusoidales (Hope, 1999; Strange, 2006).

La ausencia de alimento y condiciones ambientales no aptas afectan al nematodo, por ello este genera un estadio larvario llamado dauer, seguido del estado larvario L1, la larva dauer presenta diferencias morfológicas notables de las demás larvas, ya que presenta sus entradas bucales selladas con un tapón interno y no presenta bombeo digestivo, lo cual aísla a la larva, el nematodo en este estado, parece ser transcripcionalmente inactivo, aunque presenta altos niveles de ARNm que dan origen en su codificación a la proteína de shock térmico Hsp90, peróxido dismutasa elevada, catalasa, esto indica que las dauer son capaces de resistir el estrés metabólico (Hu, 2007).

Cepa transgénica HA759

La cepa HA759 de *C. elegans* expresa la GFP (proteína verde fluorescente) y Htn-Q150 que corresponde a un fragmento de poly Q de 150 residuos de glutamina en la posición N-terminal, es derivado de la huntingtina humana, proteína ubicada principalmente en

las neuronas ASH. La expresión de fragmentos de polyQ conlleva a la neurodegeneración y la muerte celular (Zhang *et al.*, 2012).

Su genotipo es pqe-1 (rt13) III; rtIs11 V. Se sabe que pqe-1 es el encargado de acelerar la transcripción, por lo cual acelera la muerte neuronal y celular mediada por polyQ. Tanto así que aproximadamente el 75% de las neuronas ASH mueren al tercer día de vida de *C. elegans* (Voisine *et al.*, 2007).

La GFP marca las neuronas ASH, conjunto de dos neuronas con dendritas o terminaciones ciliadas, que se encuentra ubicadas en los ganglios laterales de la cabeza de *C. elegans*, se desarrollan durante la etapa embrionaria y se anclan a la nariz por medio de una dendrita de terminaciones ciliadas y una conexión con 2 amphids (órganos mayores de la actividad quimiosensorial), conductos que se encuentran abiertos en el exterior de los labios del nematodo (figura 3). Cada amphids se une con 12 neuronas sensoriales (ADF, ADL, AFD, ASE, ASG, ASH, ASI, ASJ, ASK, AWA, AWB, AWC), las cuales interactúan entre si según el proceso biológico del nematodo (Hall, Lints & Altun, 2006).

biológico del nematodo (Hall, Lints, & Altun, 2006).

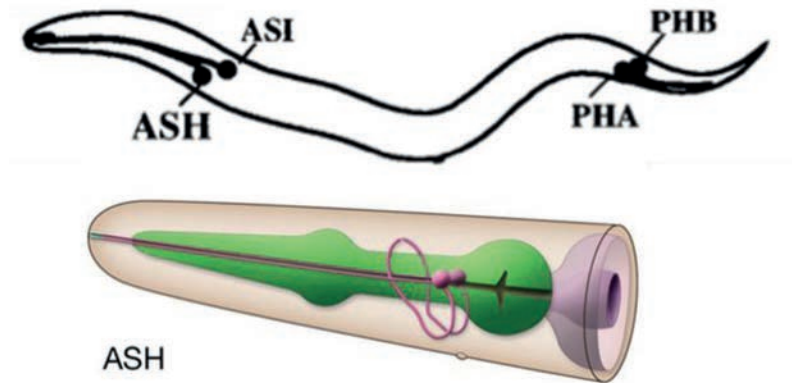


Figura 3. Ubicación de neuronas ASH. ASHL ASHR. Tomada y modificada de Hall DH, 2006 y WORMATLAS, 2019 (Hall et al., 2006; Wormatlas, 2019).

La función principal de las ASH es sensorial, nociceptiva (capacidad para diferenciar entre estímulos inocuos y estímulos en los labios) polimodal (responden a diferentes estímulos nocivos) como sensaciones de osmolaridad, mecánicas y de olores (Hall et al., 2006). Las ASH permiten evitar estímulos aversivos, generando respuestas frente a un ambiente de hiperosmolaridad, el toque de la nariz, a productos químicos volátiles (1-octanol), metales pesados (Cd^{++} y Cu^{++}), a los detergentes SDS, alto contenido de sal y alcaloides, como la quinina. Las respuestas son moduladas por monoaminas y péptidos, además por receptores como 5-HT (SER-5), DA (DOP-3, DOP-4), y OA (OCTR-1, SER-3) que funcionan directamente en las neuronas, es así como las ASH también generan una cascadas de señalizaciones, efectos locomotores, en respuesta a los diversos estímulos (Hall et al., 2006).

Estudios de *C. elegans* con extractos de plantas

Investigaciones con metabolitos pertenecientes al grupo de flavonoides, como las catequinas, y epicatequinas, arrojan resultados muy importantes para la neurociencia, entre ellas, la EH. Este grupo de metabolitos se encuentra en gran variedad de vegetales y frutos, como *Winterigia coccoloboides* y *Averrhoa carambola*, que además de presentar capacidad antioxidante (Wei, Chen, Yan, Lin & Zhou, 2014), presenta efectos sobre la longevidad, la resistencia térmica y oxidativa en *C. elegans* (Surco-Laos *et al.*, 2012; Parada F *et al.*, 2017).

Muchos grupos de investigación han mostrado interés por los flavonoides y sus efectos sobre la vida, siendo el de Surco en el 2011, un buen ejemplo, ya que evalúa el efecto de catequinas, epicatequinas, además de sus derivados metilados como 3' -O- metilepicatequina, 4' -O- metilepicatequina, sobre la longevidad de *C. elegans*, y encuentra que los derivados metilados de epicatequina aumentan la longevidad del nematodo, a diferencia de las catequinas y epicatequinas que no presentan mayor influencia sobre la duración de la vida de *C. elegans*. Adicionalmente, las catequinas aumentan la resistencia al estrés térmico y oxidativo, produciendo un incremento significativo en la tasa de supervivencia del nematodo, en comparación con los que no se trataron con dichos metabolitos. En este estudio se menciona que la absorción de flavonoides en el humano se da en el intestino delgado, de allí surge la biotransformación a derivados metilados, que llegan al torrente sanguíneo y son capaces de ubicar células diana en condiciones patológicas de estrés oxidativo o de inflamación, aspecto importante, ya que posibilita un efecto neuroprotector en enfermedades neurodegenerativas como la EH (Surco-Laos *et al.*, 2012).

Por otro lado, el uso de plantas medicinales para tratar síndromes del sistema nervioso, como depresión, demencia, rasgos

característicos en EH, abre paso a investigaciones en donde se compruebe tal efecto, en este caso Yang determinó la actividad neuroprotectora y de antienvjecimiento con extractos de etanol, n-butanol, acuoso de *Dammacantus Officinarum* Huang (DHO) en *C. elegans* (Yang *et al.*, 2012).

Para lograr esto, se realizaron ensayos de comportamiento quimiosensorial, de supervivencia neuronal ASH, y longevidad utilizando la cepa HA759 de *C. elegans*, que muestra neurotoxicidad por agregación de polyQ, pero después del tratamiento con DHO, se logró evidenciar un comportamiento quimiosensorial eficaz, al evitar en el nematodo compuestos aversivos. En cuanto a la capacidad neuroprotectora, se obtuvo un incremento en la supervivencia de las neuronas, y prolongación en la vida del nematodo. Gracias a este estudio se logra identificar la eficacia de compuestos naturales, comprobando la capacidad neuroprotectora, gran avance para el tratamiento de la EH y la enfermedad del Parkinson (Yang *et al.*, 2012).

En contraste los mecanismos del proceso de neurodegeneración, hasta el día de hoy no están muy claros. Esto, a pesar que muchos de los genes implicados están identificados, pero aún no está bien definido el papel que desempeñan en cada una de las enfermedades neurodegenerativas. El estudio de enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad del Parkinson, utiliza como organismo modelo a *C. elegans*, debido a su conservación en la señalización molecular, y en la información genética, lo que permite estudiar mecanismos del proceso de neurodegeneración. Tal es el caso de Li quien menciona aquellos genes relacionados con la enfermedad del Parkinson como, la alfa sinucleína (SNCA), parkin (PRKN), kinasa 2 con repetición rica en leucina (LRRK2), PTEN- i(nducción a la kinasa 2) PINK1, DJ-1 y ATP13A2, entre otros. Sumado a esto se nombran neurotóxicos como *1-metil-4-fenil-1, 2,3,6-tetrahidropiridina* (MPTP), 6-OHDA, rotenona, y el paraquat que inducen el desarrollo de dicha enfermedad (Li & Le, 2013).

Debido a la manipulación de genes, y a la exposición de *C. elegans* con neurotóxicos, se ha logrado tener mayor claridad de esta enfermedad. El primer estudio realiza la sobreexpresión de SNCA en la transgénica A53T, en la que se observa pérdida neuronal, disminución en la locomoción y la alimentación del nematodo, lo anterior ha sido de gran utilidad, ya que permite la evaluación de proteínas como TorsinA y Rab1 que presentan actividad neuroprotectora en respuesta a la acción de la α -sinucleína. Además, con estos mismos estudios se logra establecer efectos de la α -sinucleína sobre la mitocondria y el proteosoma, lo que implica la activación de otros genes en el proceso neurodegenerativo. También, se ha realizado la sobreexpresión de hVPS41 proteína vacuolar que podría prevenir la degeneración de neuronas dopaminérgicas, provocada por la α -sinucleína. Adicional a esto, en *C. elegans* se identificó *drj-1.1* y *drj-2* genes ortólogos al gen DJ-1 del hombre, el cual actúa como chaperona y sensor del estrés oxidativo, de esta forma se evidenció que protegen a las neuronas del nematodo frente al tratamiento con el compuesto orgánico de glioxal (Li & Le, 2013).

Dentro de los estudios adelantados con flavonoides, se ha encontrado que varios frutos y plantas poseen efectos neuroprotectores, tal es el caso de la planta medicinal *Bacoma monnieri*, puesto que inhibe la agregación de la α -sinucleína (Jadiya *et al.*, 2011) el resultado de este estudio se basó en la asociación que se le ha dado a la enfermedad de Parkinson con la agregación de la proteína nuclear α -sinucleína en las neuronas (Jadiya *et al.*, 2011) la cual está estrechamente relacionada con los cuerpos de lewy, que se forman por la agregación anormal de proteínas en las neuronas, en contraste dichas estructuras eosinofílicas se han encontrado en pacientes que presentan la enfermedad de Parkinson (Del Tredici & Duda, 2011; Gualteros, B. *et al.*, 2017).

Fu (2013) reportó dicho resultado (inhibición de la agregación de la α -sinucleína) con la acción de la acetilcolina, un componente

principal de *Corydalis bungeana*, planta originaria de china. En este estudio, de igual forma, se emplearon modelos de *C. elegans*, donde se describe que el suministro máximo de 10mM de acetilcolina no es perjudicial para los nematodos y por el contrario disminuye considerablemente la degeneración de las neuronas dopaminérgicas impidiendo la agregación de la proteína nuclear (Fu *et al.*, 2013).

La *Uncaria tomentosa* es una planta que ha servido para avanzar y obtener más conocimientos sobre los efectos antiparkinsonianos que ofrece la naturaleza, Shi (2013) utilizó modelos transgénicos de *C. elegans* para demostrar que el extracto acuoso de *Uncaria tomentosa* es útil para capturar los radicales libres de tipo hidroxilo, en su mayoría implicados en el desarrollo del Parkinson, incluso este extracto ayuda a la disminución del proceso de peroxidación lipídica el cual degrada los lípidos mediante el proceso de oxidación de los mismos, donde los productos finales de este proceso llegan a ser mutagénicos y cancerígenos, dicho de otra manera, el extracto de *Uncaria tomentosa* ejerce protección sobre las neuronas dopaminérgicas y aumenta su viabilidad (Shi *et al.*, 2013).

Los flavonoides y ácidos grasos esenciales son compuestos que se encuentran en las plantas, sus frutos y los granos, tal es el caso de *Averrhoa carambola*. Los flavonoides que posee dicho fruto son de tipo procianidinas (Velasco, Tabernero & Medina, 2003), estos generan un efecto antioxidante contra las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, protegiendo así la vida y el buen funcionamiento de las neuronas (Wang, Kern, Goodfriend, Ball & Luesch, 2009). Algunos de los ácidos grasos esenciales que presenta la *A. carambola* con sus respectivas funciones, son: Ácido oleico, el cual es empleado por las neuronas para el crecimiento de los axones, la síntesis de fosfolípidos. Ácido α linoleico, reduce el daño del ADN después de ser sometido a estrés oxidativo, entre otros ácidos

grasos presentes (Medina & Tabernero, 2002; Stiernagle, 2006; Surco-Laos *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2009).

Ahora bien, otro fruto de interés para la ciencia debido a su efecto neuroprotector es *Garcinia mangostana*. Estudios adelantados por Jung, y su equipo, evaluaron la actividad del mangostino por el método peroxinitrito, con extracción por hexano, y obtuvieron que el α - mangostino fue el componente encontrado mayoritariamente, sumado a esto, concluyeron que el efecto antioxidante de esta xantona radica en que posee grupos OH (Surco-Laos *et al.*, 2012). Posteriores estudios, fortalecen lo dicho, al afirmar que la capacidad antioxidante de *Garcinia mangostana* obedece a los componentes fenólicos antocianinas y carotenoides, los cuales fueron evaluados con extractos metanólicos tanto de la parte carnosa como de la cáscara y con extractos acuosos. Éste grupo de investigación, el de Alí Hassan, reporta que hubo mayor poder antioxidante de los extractos obtenidos con metanol, que con los acuosos (Weecharangsan *et al.*, 2006; Gualteros B. *et al.*, 2017).

Este estudio es apoyado con uno del mismo año, en el que evaluaban 4 extractos sobre un neuroblastoma y evidencian que hubo mayor neuroprotección con los extractos con alcoholes que con los acuosos de *Garcinia mangostana* (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2009).

En el 2009, un estudio publicado por la revista *Experimental and Toxicologic Pathology*, registra que al afectar neuronas con una toxina mitocondrial, el 3-NP (Ácido 3- nitropropiónico), hubo producción de radicales libres; sin embargo, cuando fueron expuestas al α - mangostin, fueron atenuados los radicales libres O_2^- , y $ONOO^-$, además de proporcionar protección frente a las células estudiadas eliminando la neurotoxicidad generada. Este estudio es importante no solo por los resultados obtenidos, sino también por que ayuda a entender y desarrollar otros estudios respecto a la etiopatología de la enfermedad del Parkinson y otras enfermeda-

des neurodegenerativas (Chomnawang, Surassmo, Nukoolkarn & Gritsanapan, 2007).

Así mismo, Chomnawana (2007) demuestra que el extracto de *Garcinia mangostana*, disminuyó significativamente la producción de radicales libres, medidos por la inhibición en la formación de estos a partir del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2009).

Sumados a estos estudios, hay muchos más que evalúan el extracto del fruto en mención, y que concluyen que las xantonas que contiene *G. mangostana* resultan ser antioxidantes, antitumorales, antialérgicos, anti-inflamatorios, entre otros (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2009). Por lo que ha despertado especial interés en científicos, quienes durante varios años han encontrado que dentro de la capacidad total de antioxidante de 27 frutas usando el ensayo DPPH, el mangostino se ubica dentro del octavo lugar (Leong & Shui, 2002).

Ahora bien, la neuroprotección de *Garcinia mangostana*, también se ha visto en el efecto antiperoxidativo en el tejido cerebral (Marquez-Valadez *et al.*, 2009), ya que disminuye la actividad de la lipoperoxidación del sulfato ferroso, la de peroxidación causada por el quinolato y el 3-NP, al observar que este fruto impidió que la mitocondria disminuyera su actividad (Martinez-Abundis *et al.*, 2010).

Conclusión

El uso de modelos transgénicos para diferentes enfermedades neurodegenerativas, permite evaluar diversos compuestos vegetales y determinar su actividad neuroprotectora o neurotóxica. Colombia es un país con una gran biodiversidad y muchas de sus plantas no han sido evaluadas en sus actividades contra el

Sistema Nervioso Central. Esto convierte al modelo de *C elegans* como una herramienta valiosa en futuros estudios con extractos de planta.

Referencias bibliográficas

Andrew, S. E., Goldberg, Y. P., Kremer, B., Telenius, H., Theilmann, J., Adam, S. *et al.* (1993). The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat Genet*, 4 (4), 398-403. Disponible en doi: 10.1038/ng0893-398

Arrasate, M. & Finkbeiner, S. (2012). Protein aggregates in Huntington's disease. *Exp Neurol*, 238 (1), 1-11. Disponible en doi: 10.1016/j.expneurol.2011.12.013

Bashir, H. (2019). Emerging therapies in Huntington's disease. *Expert Rev Neurother*, 1-13. Disponible en doi: 10.1080/14737175.2019.1631161

Bashir, H. & Jankovic, J. (2018). Treatment options for chorea. *Expert Rev Neurother*, 18 (1), 51-63. Disponible en doi: 10.1080/14737175.2018.1403899

Cattaneo, E., Zuccato, C. & Tartari, M. (2005). Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nat Rev Neurosci*, 6(12), 919-930. Disponible en doi: 10.1038/nrn1806

Clinic, M. (1998). *Diseases & Conditions*. Disponible en <https://www.mayoclinic.org/>

Chaganti, S. S., McCusker, E. A. & Loy, C. T. (2017). What do we know about Late Onset Huntington's Disease? *J Huntingtons Dis*, 6(2), 95-103. Disponible en doi: 10.3233/JHD-170247

Chomnawang, M. T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V. S. & Gritsanapan, W. (2007). Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation

caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia*, 78(6), 401-408. Disponible en doi: 10.1016/j.fitote.2007.02.019

Del Tredici, K. & Duda, J. E. (2011). Peripheral Lewy body pathology in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease: four cases. *J Neurol Sci*, 310(1-2), 100-106. Disponible en doi: 10.1016/j.jns.2011.06.003

Emmons, S. W. (2005). Male development. *WormBook*, 1-22. Disponible en doi: 10.1895/wormbook.1.33.1

Epstein Henry & Diane, S. (Edits.) (1995). *Caenorhabditis elegans: Modern Biological Analysis of an Organism*. *Caenorhabditis Elegans: Modern Biological Analysis of an Organism, Methods in Cell Biology*(48). San Diego. California. A. Press.

Fu, R. H., Wang, Y. C., Chen, C. S., Tsai, R. T., Liu, S. P., Chang, W. L.,... Lin, S. Z. (2014). Acetylcorynoline attenuates dopaminergic neuron degeneration and alpha-synuclein aggregation in animal models of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 82, 108-120. Disponible en doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.08.007

Fusilli, C., Migliore, S., Mazza, T., Consoli, F., De Luca, A., Barbagallo, G.,... Squitieri, F. (2018). Biological and clinical manifestations of juvenile Huntington's disease: a retrospective analysis. *Lancet Neurol*, 17(11), 986-993. Disponible en doi: 10.1016/S1474-4422(18)30294-1

Genetic Modifiers of Huntington's Disease, C. (2015). Identification of Genetic Factors that Modify Clinical Onset of Huntington's Disease. *Cell*, 162(3), 516-526. Disponible en doi: 10.1016/j.cell.2015.07.003

Ghosh, R. & Tabrizi, S. J. (2018). Huntington disease. *Handb Clin Neurol*, 147, 255-278. Disponible en doi: 10.1016/B978-0-444-63233-3.00017-8

Gualteros, B., Adriana, M., González, D., Gómez, J. & Sánchez, M. (2016). Effect of *Annona muricata* on the phenotype of a mutant strain of *Caenorhabditis elegans*. *3rd Biotechnology Summit 2016*, Sonora, México, 26-30.

Hall, D. H., Lints, R. & Altun, Z. (2006). Nematode neurons: anatomy and anatomical methods in *Caenorhabditis elegans*. *Int Rev Neurobiol*, 69, 1-35. Disponible en doi: 10.1016/S0074-7742(05)69001-0

Herman, M. A. (2006). Hermaphrodite cell-fate specification. *WormBook*, 1-16. Disponible en doi: 10.1895/wormbook.1.39.1

Hope, I. A. (1999). *C. elegans: un enfoque práctico*. Oxford: OUP Oxford.

Hu, P. J. (2007). Dauer. *WormBook*, 1-19. Disponible en doi: 10.1895/wormbook.1.144.1

Jacobs, M., Hart, E. P., van Zwet, E. W., Bentivoglio, A. R., Burgunder, J. M., Craufurd, D.,... Network, R. i. o. t. E. H. s. D. (2016). Progression of motor subtypes in Huntington's disease: a 6-year follow-up study. *J Neurol*, 263 (10), 2080-2085. Disponible en doi: 10.1007/s00415-016-8233-x

Jadiya, P., Khan, A., Sammi, S. R., Kaur, S., Mir, S. S. & Nazir, A. (2011). Anti-Parkinsonian effects of *Bacopa monnieri*: insights from transgenic and pharmacological *Caenorhabditis elegans* models of Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 413 (4), 605-610. Disponible en doi: 10.1016/j.bbrc.2011.09.010

Landles, C., Sathasivam, K., Weiss, A., Woodman, B., Moffitt, H., Finkbeiner, S.,... Bates, G. P. (2010). Proteolysis of mutant huntingtin produces an exon 1 fragment that accumulates as an aggregated protein in neuronal nuclei in Huntington disease. *J Biol Chem*, 285 (12), 8808-8823. Disponible en doi: 10.1074/jbc.M109.075028

Leong, L. P. & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76(1), 69-75. Disponible en doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00251-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5)

Li, J. & Le, W. (2013). Modeling neurodegenerative diseases in *Caenorhabditis elegans*. *Exp Neurol*, 250, 94-103. Disponible en doi: 10.1016/j.expneurol.2013.09.024

Marquez-Valadez, B., Lugo-Huitron, R., Valdivia-Cerda, V., Miranda-Ramirez, L. R., Perez-De La Cruz, V., Gonzalez-Cuahutencos,

O.,... Pedraza-Chaverri, J. (2009). The natural xanthone alpha-mangostin reduces oxidative damage in rat brain tissue. *Nutr Neurosci*, 12(1), 35-42. Disponible en doi: 10.1179/147683009X388850

Martinez-Abundis, E., Garcia, N., Correa, F., Hernandez-Resendiz, S., Pedraza-Chaverri, J. & Zazueta, C. (2010). Effects of alpha-mangostin on mitochondrial energetic metabolism. *Mitochondrion*, 10(2), 151-157. Disponible en doi: 10.1016/j.mito.2009.12.140

Medina, J. M. & Tabernero, A. (2002). Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. *J Physiol Paris*, 96 (3-4), 265-271.

Neueder, A., Landles, C., Ghosh, R., Howland, D., Myers, R. H., Faull, R. L. M., . . . Bates, G. P. (2017). The pathogenic exon 1 HTT protein is produced by incomplete splicing in Huntington's disease patients. *Sci Rep*, 7(1), p. 1307. Disponible en doi: 10.1038/s41598-017-01510-z

Parada Ferro, L. K., Gualteros-Bustos, A. V. & Sánchez-Mora, R. M. (2017). Phenotypic characterization of the N2 strain of *Caenorhabditis elegans* as a model in neurodegenerative diseases. *Nova*, 15(28), 69-78.

Pedraza-Chaverri, J., Reyes-Fermin, L. M., Nolasco-Amaya, E. G., Orozco-Ibarra, M., Medina-Campos, O. N., Gonzalez-Cuahuten-cos, O.,... Mata, R. (2009). ROS scavenging capacity and neuroprotective effect of alpha-mangostin against 3-nitropropionic acid in cerebellar granule neurons. *Exp Toxicol Pathol*, 61(5), 491-501. Disponible en doi: 10.1016/j.etp.2008.11.002

Pringsheim, T., Wiltshire, K., Day, L., Dykeman, J., Steeves, T. & Jette, N. (2012). The incidence and prevalence of Huntington's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*, 27(9), 1083-1091. Disponible en doi: 10.1002/mds.25075

Rawlins, M. D., Wexler, N. S., Wexler, A. R., Tabrizi, S. J., Douglas, I., Evans, S. J. & Smeeth, L. (2016). The Prevalence of Huntington's Disease. *Neuroepidemiology*, 46(2), 144-153. Disponible en doi: 10.1159/000443738

Ríos, S. P. (2016). *Fisiopatología en la Corea de Huntington*. Disponible en from <https://slideplayer.es/slide/5581777/>

Romero, H. Q. (1999). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Limusa.

Sathasivam, K., Neueder, A., Gipson, T. A., Landles, C., Benjamin, A. C., Bondulich, M. K.,... Bates, G. P. (2013). Aberrant splicing of HTT generates the pathogenic exon 1 protein in Huntington disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110(6), 2366-2370. Disponible en doi: 10.1073/pnas.1221891110

Saudou, F., Finkbeiner, S., Devys, D. & Greenberg, M. E. (1998). Huntingtin acts in the nucleus to induce apoptosis but death does not correlate with the formation of intranuclear inclusions. *Cell*, 95 (1), 55-66.

Saudou, F. & Humbert, S. (2016). The Biology of Huntingtin. *Neuron*, 89 (5), 910-926. Disponible en doi: 10.1016/j.neuron.2016.02.003

Shi, Z., Lu, Z., Zhao, Y., Wang, Y., Zhao-Wilson, X., Guan, P., . . . Zhao, B. (2013). Neuroprotective effects of aqueous extracts of *Uncaria tomentosa*: Insights from 6-OHDA induced cell damage and transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Neurochem Int*, 62(7), 940-947. Disponible en doi: 10.1016/j.neuint.2013.03.001

Shin, J. Y., Fang, Z. H., Yu, Z. X., Wang, C. E., Li, S. H. & Li, X. J. (2005). Expression of mutant huntingtin in glial cells contributes to neuronal excitotoxicity. *J Cell Biol*, 171 (6), 1001-1012. Disponible en doi: 10.1083/jcb.200508072

Sica, R. E. (2015). Could astrocytes be the primary target of an offending agent causing the primary degenerative diseases of the human central nervous system? A hypothesis. *Med Hypotheses*, 84(5), 481-489. Disponible en doi: 10.1016/j.mehy.2015.02.004

Slow, E. J., Graham, R. K., Osmand, A. P., Devon, R. S., Lu, G., Deng, Y.,... Hayden, M. R. (2005). Absence of behavioral abnormalities and neurodegeneration in vivo despite widespread neuro-

nal huntingtin inclusions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(32), 11402-11407. Disponible en doi: 10.1073/pnas.0503634102

Slow, E. J., van Raamsdonk, J., Rogers, D., Coleman, S. H., Graham, R. K., Deng, Y.,... Hayden, M. R. (2003). Selective striatal neuronal loss in a YAC128 mouse model of Huntington disease. *Hum Mol Genet*, 12(13), 1555-1567. Disponible en doi: 10.1093/hmg/ddg169

Stiernagle, T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. *WormBook*, 1-11. Disponible en doi: 10.1895/wormbook.1.101.1

Strange, K. (2006). *C. Elegans: Methods and Applications*. En S. S. B. Media (Ed.), 292.

Surco-Laos, F., Dueñas, M., González-Manzano, S., Cabello, J., Santos-Buelga, C. & González-Paramás, A. M. (2012). Influence of catechins and their methylated metabolites on lifespan and resistance to oxidative and thermal stress of *Caenorhabditis elegans* and epicatechin uptake. *Food Research International*, 46(2), 514-521. Disponible en doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.014>

United Nations Convention on Biological Diversity (1996). *J Ethnopharmacol*, 51(1-3), 287-305.

Velasco, A., Tabernero, A. & Medina, J. M. (2003). Role of oleic acid as a neurotrophic factor is supported in vivo by the expression of GAP-43 subsequent to the activation of SREBP-1 and the up-regulation of stearoyl-CoA desaturase during postnatal development of the brain. *Brain Res*, 977(1), 103-111. Disponible en doi: 10.1016/S0006-8993(03)02772-0

Voisine, C., Varma, H., Walker, N., Bates, E. A., Stockwell, B. R. & Hart, A. C. (2007). Identification of potential therapeutic drugs for huntington's disease using *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*, 2(6). Disponible en doi: 10.1371/journal.pone.0000504

Walker, F. O. (2007). Huntington's disease. *Lancet*, 369(9557), 218-228. Disponible en doi: 10.1016/S0140-6736(07)60111-1

Wang, R., Kern, J. T., Goodfriend, T. L., Ball, D. L. & Luesch, H. (2009). Activation of the antioxidant response element by specific oxidized metabolites of linoleic acid. *Prostaglandins Leukot*

Essent Fatty Acids, 81(1), 53-59. Disponible en doi: 10.1016/j.plefa.2009.04.008

Warby, S. C., Visschen, H., Collins, J. A., Doty, C. N., Carter, C., Butland, S. L., . . . Hayden, M. R. (2011). HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. *Eur J Hum Genet*, 19(5), 561-566. Disponible en doi: 10.1038/ejhg.2010.229

Weecharangsan, W., Opanasopit, P., Sukma, M., Ngawhirunpat, T., Sotanaphun, U. & Siripong, P. (2006). Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Med Princ Pract*, 15(4), 281-287. Disponible en doi: 10.1159/000092991

Wei, S.-D., Chen, H., Yan, T., Lin, Y. M. & Zhou, H. C. (2014). Identification of antioxidant components and fatty acid profiles of the leaves and fruits from *Averrhoa carambola*. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 278-285. Disponible en doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.013>

Wexler, A. (2010). Stigma, history, and Huntington's disease. *Lancet*, 376(9734), 18-19. Disponible en doi: 10.1016/S0140-6736(10)60957-9

Wormatlas. (2019). *ASHL, ASHR*. Disponible en <https://www.wormatlas.org/neurons/Individual%20Neurons/ASHframeset.html>

Yang, X., Zhang, P., Wu, J., Xiong, S., Jin, N. & Huang, Z. (2012). The neuroprotective and lifespan-extension activities of *Damnanthus officinarum* extracts in *Caenorhabditis elegans*. *J. Ethnopharmacol*, 141(1), 41-47. Disponible en doi: 10.1016/j.jep.2012.01.025

Zhang, H., Pan, N., Xiong, S., Zou, S., Li, H., Xiao, L.,... Huang, Z. (2012). Inhibition of polyglutamine-mediated proteotoxicity by *Astragalus membranaceus* polysaccharide through the DAF-16/FOXO transcription factor in *Caenorhabditis elegans*. *Biochem J*, 441(1), 417-424. Disponible en doi: 10.1042/BJ20110621

Zuccato, C., Valenza, M. & Cattaneo, E. (2010). Molecular mechanisms and potential therapeutical targets in Huntington's disease. *Physiol Rev*, 90(3), 905-981. Disponible en doi: 10.1152/physrev.00041.2009.

Capítulo 6

Polimorfismos en el gen de la Mieloperoxidasa aumenta la susceptibilidad a infecciones

Lina M. Riaño Parra*
Andrea Cruz Baquero
Liliana Muñoz M.
Jeannette Navarrete
Gladys Pinilla**

Resumen

La mieloperoxidasa (MPO) representa el 5% de las proteínas de los neutrófilos y es un potente microbicida asociado a un aumento de la actividad respiratoria; además, juega un papel importante frente a las infecciones a nivel de la respuesta inmune innata. Sin embargo, la deficiencia de la MPO se ha observado en pacientes con infecciones recurrentes; asimismo se ha demostrado que la variación o presencia de algún polimorfismo/s en el *gen mpo* puede conferir susceptibilidad a infecciones.

Actualmente, el diagnóstico para la deficiencia de mieloperoxidasa se lleva a cabo mediante la detección de un posible polimorfismo/s en el *gen mpo*, tinciones citoquímicas o por medio del

* Semillero Grupo REMA Programa de Bacteriología y laboratorio Clínico Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

** Docentes Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

análisis de citometría de flujo en laboratorios de hematología clínica para la enumeración de PMN con actividad de la enzima mieloperoxidasa. Por lo anterior, se hace una revisión bibliográfica a cerca de las investigaciones relacionadas con la deficiencia de MPO.

Palabras Claves: Candidiasis, enzima Mieloperoxidasa, polimorfismos, deficiencia enzimática, infecciones recurrentes.

Antecedentes

El interés sobre la mieloperoxidasa ha llevado a diferentes investigadores a realizar diversos estudios sobre su función, características y ubicación, describiéndola como una sustancia presente en los neutrófilos, que en combinación con H_2O_2 y cloruro constituye un potente microbicida. Datos bioquímicos han demostrado que la mieloperoxidasa (MPO) genera toxinas antimicrobianas letales en los neutrófilos siendo activas dentro de los fagosomas, donde se producen oxidantes que reaccionan tóxicamente hacia los microorganismos ingeridos. El papel fundamental de la MPO se da durante la respuesta inmune innata, cuando la cantidad de microorganismos sobrepasa la capacidad de defensa de otros mecanismos en el huésped (Klebanoff, 2013).

Estudios citoquímicos que datan de principios de 1900, sugieren la presencia de una peroxidasa en los gránulos citoplásmicos de los neutrófilos, en especies como simios, caninos y humanos (Klebanoff, 2013). En 1920, Graham, reportó por primera vez la liberación de “peroxidasa” por parte de los gránulos presentes en el citoplasma de los neutrófilos durante el proceso de fagocitosis, los cuales fueron evidenciados mediante coloraciones que permitían teñirlos, ya que anteriormente, en 1900 se había estableci-

do la presencia de peroxidasa en los gránulos citoplasmáticos de granulocitos maduros, específicamente en los gránulos primarios o azurófilos (Klebanoff, 2005; Nauseef, 2014), llegando a concluir que los gránulos desaparecían de los leucocitos progresivamente a medida que aumentaba el número de inclusiones bacterianas en la célula (Klebanoff, 2005).

En 1940, Kjell Agner reportó que los neutrófilos poseían MPO en concentraciones no menores de 1-2% en la célula, pero años más tarde, Schultz definió que la MPO representaba un 5% del peso de los neutrófilos; además, la Mieloperoxidasa fue nombrada inicialmente como verdeperoxidasa debido a su color característico. Posteriormente, Theorell y Akesson lograron purificar una de las peroxidasas de aspecto marrón-verde hallada en leche de vacas, demostrando que está tenía propiedades diferentes a la catalogada verdeperoxidasa, proponiendo los nombres que actualmente se conocen como Mieloperoxidasa y Lactoperoxidasa (LPO) (Nauseef, 2014).

En 1957, Seymour J. Klebanoff de la Universidad Rockefeller de New York trabajó en el laboratorio Reginald Archibald y encontró que diferentes sustancias estaban involucradas en procesos microbicidas; tales sustancias eran peroxidasas (LPO y MPO), las cuales podrían desempeñar un papel importante en la catálisis de reacciones dependientes a oxígeno, fue entonces cuando surgió la pregunta acerca de la función principal de los neutrófilos en la fagocitosis y la destrucción de microorganismos: ¿la función de la MPO en los neutrófilos es la destrucción de los microorganismos ingeridos? En 1967, Klebanoff informó que los iones de MPO, H_2O_2 , yoduro, cloruro o bromuro formaban un poderoso sistema antimicrobiano en los neutrófilos (Klebanoff, 2005).

Para 1960, Hirsch y Cohn describieron el proceso de desgranulación durante la fagocitosis, e hicieron evidente como la membrana de los gránulos se rompía y descargaba su contenido dentro del fagosoma, a partir de allí se estudiaron y aislaron gránulos

de granulocitos de conejos, encontrando gran variedad de hidrolasas, así como una proteína antimicrobiana a la que denominaron fagocitina. Posteriormente, en 1961, un grupo de científicos, Iyer, Islam y Quastel, explicaron que la explosión respiratoria de los neutrófilos estaba asociada a la formación de H_2O_2 , calificándolo con un producto implicado en la actividad antimicrobiana hacia cientos microorganismos (Klebanoff, 2005 y 2013).

En 1969, Lehrer, Cline y Hanifin, describieron a un paciente diabético con deficiencia de MPO y candidiasis sistémica cuyos neutrófilos tenían un defecto candidacidal prolongado in vitro, es decir, la acción microbicida de los neutrófilos era menor, en este momento se consideró la deficiencia de MPO como un evento anómalo. Años después, un estudio comparó 100 pacientes con deficiencia total o subtotal de MPO con 118 pacientes con niveles normales de MPO, donde hubo una incidencia estadísticamente significativa mayor de infección grave y procesos inflamatorios crónicos en pacientes deficientes (Klebanoff, 2005 y 2013).

Posteriormente, durante un experimento realizado con el fin de comparar la actividad microbicida de neutrófilos normales y deficientes en MPO en diferentes organismos, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Candida tropicalis*; se utilizó azida, la cual actúa como inhibidora de la peroxidasa. Se determinó que el azida disminuyó la actividad microbicida de los neutrófilos normales, mientras que en los neutrófilos con deficiencia de MPO no tuvo efecto, lo que sugirió que posiblemente esta sustancia ejercía su efecto sobre las células normales mediante la inhibición de la MPO (Klebanoff, 2005 y 2013).

Sin embargo, también se comparó la actividad de los neutrófilos normales con los que presentaban deficiencia sin inhibidor alguno, evidenciando menor muerte bacteriana con respecto a los deficientes de MPO. En ratones que carecían de MPO (MPO-knockout), se observó que estos eran más susceptibles a infecciones por *Candida albicans*, esencialmente infecciones pulmonares al

ser inoculados intranasalmente por *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Trichosporon asahii* y *Pseudomona auriginosa*, entre otros (Klebanoff, 2005). Gracias a estos estudios, se concluyó que cuando la carga fúngica es baja, las especies de oxígeno reactivo (ROS) formados por la NADPH oxidasa de los neutrófilos son suficientes para poder controlar la infección en ausencia de MPO; por el contrario, a una carga fúngica alta, se necesitan obligatoriamente productos de estallidos respiratorios y MPO (Klebanoff, 2005 y 2013).

Los informes de deficiencia de MPO fueron poco frecuentes hasta que los laboratorios de hematología adoptaron tinciones con peroxidasa y citometría de flujo para identificar y enumerar células en sangre periférica. En 1954 se describe por primera vez esta deficiencia como un trastorno autosómico recesivo causado por mutaciones en el gen que codifica para esta enzima. Posteriormente, los estudios demuestran que la deficiencia de MPO ocurre comúnmente, afectando a 1 en 2000 a 4000 individuos sanos en América del Norte y Europa, y 1 en 57000 en Japón (Klebanoff, 2005 y 2013; Pahwa, 2017).

Por otro lado, la candidiasis ha sido identificada desde la antigüedad, Hipócrates en su tratado sobre “epidemias” describió dos casos de afta oral y muget en pacientes debilitados. La infección tuvo gran prevalencia en los años 1700 en Francia, por lo que se ofreció un premio al estudio realizado por Véron en 1835, quién expuso que esta infección se adquiría a través del útero, también describiendo los primeros casos de candidiasis esofágica. En 1849, Wilkinson describió por primera vez la candidiasis vaginal en una paciente de 77 años de edad, quien presentaba una secreción vaginal profusa (Munillo, 2013).

Las primeras descripciones de otras formas superficiales de candidiasis aparecen al comienzo del siglo XX, cuando se establece que las enfermedades inmunosupresoras predisponían a los pacientes a la candidiasis; del mismo modo, Zenker en 1861, describió la candidiasis sistémica como una la enfermedad gene-

realizada causada por diseminación hematógnea, observado en un paciente debilitado y con muguet bucal (Murillo, 2013).

Neutrófilos

Los neutrófilos representan los leucocitos más predominantes en circulación y son las primeras células en responder a una infección, forman parte de la respuesta innata y constituyen un eficiente mecanismo de protección no específica contra diferentes agentes infecciosos (Staines, 2005); una vez se desencadena la respuesta inmune, los microorganismos son ingeridos por el fagocito, ligandos asociados al mismo agente, como anticuerpos y/o complemento, se unen a los receptores de membrana a medida que esta se invagina para formar el fagosoma, el cual crea condiciones que matan y degradan los microorganismos ingeridos, debido a la activación de la NADPH oxidasa y la degranulación (Nauseef, 2014; Klebanoff, 2013), así mismo, se liberan ROS y los componentes respectivos de los gránulos en el fagosoma. La NADPH oxidasa transfiere electrones al fagosoma, generando anión superóxido y peróxido de hidrógeno a partir de oxígeno molecular, este proceso crea un espacio entre los componentes liberados por los gránulos y los ROS quienes reaccionan en conjunto en el microorganismo (Nauseef, 2014). En este proceso se ve involucrada la presencia de MPO, la cual puede unirse a la superficie cargada negativamente del microorganismo y reaccionar allí con H_2O_2 , para iniciar la formación de oxidantes dependientes de MPO en proximidad al microbio ingerido (Klebanoff, 2005); del mismo modo, se ve involucrado en el proceso Cl^- , el cual entra al fagosoma por medio de un regulador de conductina (CFTR), para posteriormente ser catalizado por la reacción entre MPO y H_2O_2 , y producir HOCl, el cual genera una serie de productos, que inclu-

yen monoclóraminas (NH_2Cl), proteínas clóraminas (PNHCl) complementando la actividad microbicida en el sistema $\text{MPO} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{Cl}$ (Nauseef, 2014).

Sin embargo, pueden ocurrir defectos durante el proceso de fagocitosis que incluyen:

1. Defectos en la producción de neutrófilos.
2. Defecto en la adhesión leucocitaria.
3. Defecto en la vía enzimática oxidativa.
4. Deficiencia específica de gránulos.

Estos defectos causan deficiencias en la actividad inmunológica de los neutrófilos, desencadenando mayor susceptibilidad a la adquisición de infecciones y enfermedades (Staines, 2005).

Mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa es una hemoproteína presente en los gránulos azurófilos de los neutrófilos y en menor proporción en los lisosomas de los monocitos, involucrada en la actividad microbicida hacia un amplio grupo de microorganismos. La MPO es capaz de catalizar la producción de ácidos hipohalogenosos, como el ácido hipocloroso e interactuar con oxígeno singlete, clóraminas y aldehídos; así mismo, actúa en la regulación de la inflamación, limita el daño tisular y facilita el cambio de la inmunidad innata a la adaptativa (Klebanoff, 2005; Staines, 2005; Khan, 2018; Prokopowicz, 2011).

La síntesis de mieloperoxidasa inicia durante el estadio de promielocito del neutrófilo y finaliza en el estadio de mielocito, donde es contenido en los gránulos azurófilos o primarios de tamaño heterogéneo, distribuidos por toda la célula. Los monocitos también contienen gránulos que contienen MPO, pero en menor cantidad;

sin embargo, estos gránulos se pierden cuando hay diferenciación a macrófagos tisulares (Prokopowicz, 2011; Odobasic, 2016).

Según la literatura, se ha establecido que la enzima mieloperoxidasa es el producto de un gen de 11 kb de tamaño, compuesto por 11 intrones y 12 exones, localizado en el brazo largo del cromosoma 17 en el segmento q12-24, consta de dos cadenas pesadas (subunidades α), dos cadenas ligeras subunidades β y dos átomos de hierro (figura 1). El producto de traducción inicial es una proteína de 80 kD, que tras un proceso de eliminación proteolítica de un péptido de 41 aminoácidos sufre glucosilación con la incorporación de cadenas laterales ricas en manosa, generando un producto de MPO enzimáticamente inactivo el cual forma un complejo en el retículo endoplasmático con proteínas de unión al calcio, calreticulina y calnexina, las cuales actúan como chaperonas moleculares, con la inserción de un grupo hemo, que se une a las cadenas pesadas de la molécula, para luego convertirse en una enzima activa y así llevar a cabo su función microbicida en la célula (Persad, 2018; Khan, 2018; García 1998).

La MPO tiene una masa molecular de aproximadamente 150 kD, siendo una proteína fuertemente básica con un punto isoelectrico de 10 y con avidez a las superficies de carga negativa; además, está conformada por 1146 aminoácidos donde cada homodímero cuenta con 573 aminoácidos, 466 pertenece a la subunidad pesada y, 107 a la subunidad ligera. El sitio activo de la MPO consta de dos regiones fundamentales: la primera, involucrada en la unión con el ligando; y la segunda, relacionada con la actividad catalítica de la enzima (Persad, 2018; Khan, 2018; García, 1998).

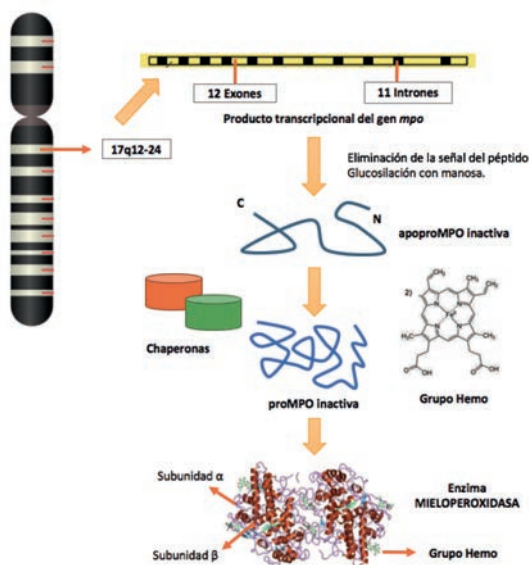


Fig 1. Pasos involucrados en la síntesis de la enzima MPO*

*Tomado y Modificado de: Khan, A., Alsahli, M. & Rahmani, A. (2018).

La acción antimicrobiana de los neutrófilos hacia diferentes microorganismos depende de la relación entre la enzima azurófila MPO y el H_2O_2 , producto de la acción de la enzima NADPH oxidasa, los cuales actúan en la producción de ácido hipocloroso a partir de cloruros; dándose una reacción microbicida entre enzimas, oxidantes o ROS y subproductos como se ha mencionado, debido a que la MPO apoya la producción de cantidades letales de HOCl (Nauseef, 2014). Así mismo, la MPO se requiere para finalizar el estallido respiratorio originado por la NADPH oxidasa, con el fin de equilibrar la excesiva producción de ROS, ya que, si existe deficiencia y/o ausencia de MPO puede llegar a presentarse acumulación de diversas sustancias, como por ejemplo H_2O_2 el cual se degrada en parte por el sistema MPO, dado a que, al no ser controlado puede llegar a ser tóxico para el mismo organismo (Klebanoff, 2005; Nauseef, 2014).

La mieloperoxidasa posee tres complejos diferentes que pueden darse durante la reacción del estallido respiratorio en el proceso de fagocitosis. Esta enzima utiliza el potencial oxidativo junto con el H_2O_2 para llevar a cabo los ciclos de peroxidación y halogenación, desencadenando la unión de H_2O_2 con átomos halogenados (Br, Cl, I) por medio de la mieloperoxidasa (MPO), con formación de especies oxidantes citotóxicas y el compuesto HOCl, el cual desarrolla su actividad antimicrobiana en la modificación de lípidos, ADN, aminos, tirosina y cloraminas, ocasionando un daño oxidativo en proteínas de los microorganismos, ya que la acción de MPO también tiene la propiedad de catalizar la oxidación de una gran cantidad de sustratos clásicos de peroxidasa, como los mencionados anteriormente (Klebanoff, 2013; Staines, 2005; Pahwa, 2017; Prokopowicz, 2011).



El sistema de MPO- H_2O_2 - Haluros representa el más eficiente mecanismo microbicida dependiente de oxígeno en PMN, como se muestra en la anterior reacción química (DeLeo, 1998).

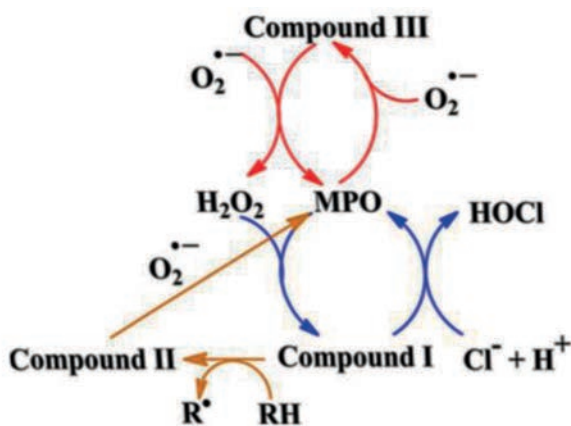


Fig 2. Componentes de reacciones catalizadas por MPO dentro del fagosoma.

Tomado de: Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. (2013)

La enzima responsable del consumo de oxígeno es un complejo NADPH oxidasa, que logra ensamblarse en la membrana fagosomal y se une con el flavohemocitocromo, un heterodímero que se localiza en la membrana de los gránulos específicos, el cual transfiere electrones de O_2 a partir de la molécula NADPH para producir O_2^- , dando paso a la formación de aniones superóxido dentro del fagosoma; la transferencia de electrones crea un desequilibrio de carga que logra despolarizar la membrana fagosomal y acidifica el medio intracelular. Después, el H_2O_2 reacciona con el O_2^- dando paso a la formación de oxígeno singlete y radicales hidroxilo (HO); además, el H_2O_2 sirve de sustrato de la MPO, que oxida el cloruro y otros haluros como el bromuro, yoduro y el pseudohaluro tiocianato, para poder generar los respectivos ácidos hipohalosos. En consecuencia, debido a la formación de todos estos compuestos (conocidos como ROS) en el interior del fagosoma se crea un ambiente altamente tóxico para los microorganismos, lo que ocasiona su destrucción y muerte (Vélez, 2016; Klebanoff, 2013).

Durante la fagocitosis ocurre un aumento en el consumo de glucosa y oxígeno como consecuencia del estallido respiratorio que desencadena un proceso de muerte intracelular; esto ocurre gracias a la presencia de sistemas antimicrobianos que posee el organismo, donde puede estar involucrada o no la MPO, estos son el sistema dependiente de mieloperoxidasa y el sistema independiente de mieloperoxidasa, que se describen en la figura 2 (Vélez, 2016).

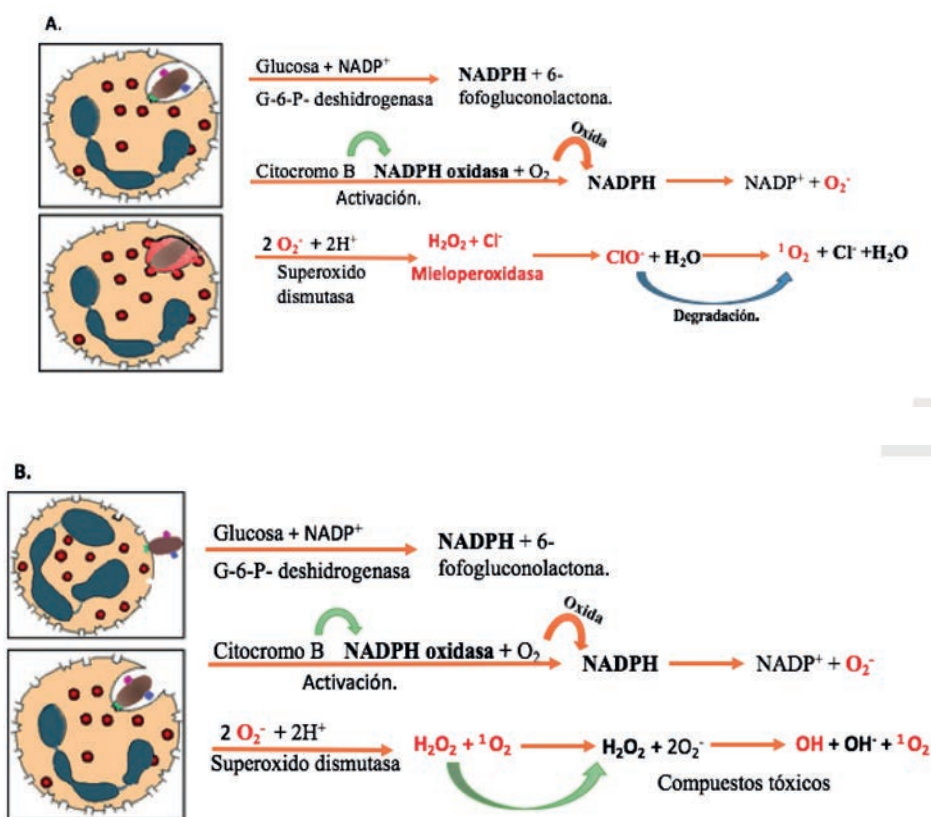


Fig 3. A. Activación sistema antimicrobiano MPO- H₂O₂-Cl A. estallido respiratorio sistema oxígeno dependiente, mieloperoxidasa dependiente. B. estallido respiratorio sistema oxígeno dependiente, mieloperoxidasa independiente.

Tomado de: Microbiología e inmunología. Disponible en: <http://www.microbiologybook.org/Spanish-immuno/imm-chapter1.htm>

En enfermedades infecciosas e inflamatorias se ha observado el incremento de la actividad de la MPO, lo cual se asocia a un aumento del riesgo de estrés oxidativo. La MPO y el H₂O₂ también pueden ser liberados al exterior del PMN, elevando el potencial de

daño extracelular debido a la producción de HOCl. El espectro de toxicidad del sistema MPO-H₂O₂- Haluros, incluye bacterias, hongos, virus, células tumorales y se ha demostrado que también está involucrado en la patogénesis de trastornos inflamatorios como aterosclerosis y esclerosis múltiple (Nauseef, 2000).

Por otra parte, la actividad de la mieloperoxidasa ha sido detectada en muestras de fluidos vaginales de la mayoría de las mujeres en cantidades, suficientes para inducir un efecto microbicida, debido a la presencia de *Lactobacillus*, los cuales tienen la facultad de producir H₂O₂, que termina actuando como un mecanismo de defensa del hospedador en la vagina en presencia o ausencia de peroxidasa de origen leucocitario⁹, lo que puede llegar a fortalecer el efecto antimicrobiano tanto en la acción de la MPO como en la producción de H₂O₂ producido por bacterias propias del sistema uterino femenino (Klebanoff, 2005; Nauseef, 2014).

Deficiencia de MPO y susceptibilidad a infecciones

La presencia de MPO durante la respuesta de PMN es importante debido a la producción de ácido hipocloroso como potente microbicida junto a H₂O₂ (Klebanoff, 2005; Nauseef, 2014). En el sistema MPO-H₂O₂-Cl las enzimas granulares liberadas en los fagosomas pueden modificarse químicamente y modularse funcionalmente, mejorarse o reducirse, dependiendo del agente en particular (Nauseef, 2014). La ausencia o deficiencia de MPO tiene consecuencias para la acción antimicrobiana, reflejada en la pérdida de la producción y acción de HOCl, lo que resulta en la eliminación de la capacidad antioxidante que ejerce el sistema; tal deficiencia de MPO elimina no solo la capacidad de producir daño letal a los microorganismos, sino también la de modificar la estructura y actividad de otros elementos antimicrobianos presentes en los fa-

gosomas (Aratani, 2004). Sin MPO, las proteínas granulares como NE, catepsina G y MMP-7, agentes inactivados por el sistema de cloruro-MPO- H_2O_2 , serán funcionales y ejercerán una acción antimicrobiana que no está presente en los fagosomas de los neutrófilos normales.

Así mismo, los neutrófilos deficientes en MPO tienen una actividad oxidasa prolongada y llegan a generar más H_2O_2 que los neutrófilos normales; por lo tanto, la ausencia o deficiencia de MPO, que normalmente consume H_2O_2 de forma rápida para generar HOCl, conducirá al aumento de la concentración de H_2O_2 , pudiendo causar un efecto tóxico en el organismo. La composición oxidante alterada y el tono en fagosomas deficientes en MPO modifican las moléculas efectoras disponibles y también los sustratos que actúan sobre los microorganismos. Se ha demostrado que los neutrófilos MPO-deficientes eliminan diferentes especies de microorganismos más lentamente que las células normales; además, los pacientes que cursan con esta deficiencia pueden presentar episodios de neutropenia que los condiciona en mayor proporción a contraer infecciones fúngicas (Nauseef, 2014; Aratani, 2000).

En un estudio *in vitro* realizado por Klebanoff *et al.*, en pacientes con deficiencia de MPO se evidenció la ineficacia para matar microorganismos como *S. aureus*, *C. albicans* y *E. coli*, dado a que los PMN deficientes de la enzima mostraron actividad microbicida más lenta en comparación a los PMN normales; por ejemplo, se estableció que para inducir el mismo grado de destrucción de los microorganismos mencionados se requirió de 3-4h de incubación con los neutrófilos deficientes de MPO, donde lo normal llega a ser de 30-45 min. Del mismo modo, como se observa en la figura 3, se puede evidenciar el retraso en la respuesta inmune y, el deficiente control antimicrobiano frente a diferentes microorganismos, puesto que, cuando existe una deficiencia de MPO se observa como la concentración de microorganismos tiende a ser

constante y puede disminuir levemente, después de un período de tiempo prolongado; así mismo, la destrucción se ve afectada disminuyendo el porcentaje de destrucción de microorganismos, principalmente en agentes como *C. albicans* (Klebanoff, 2013).

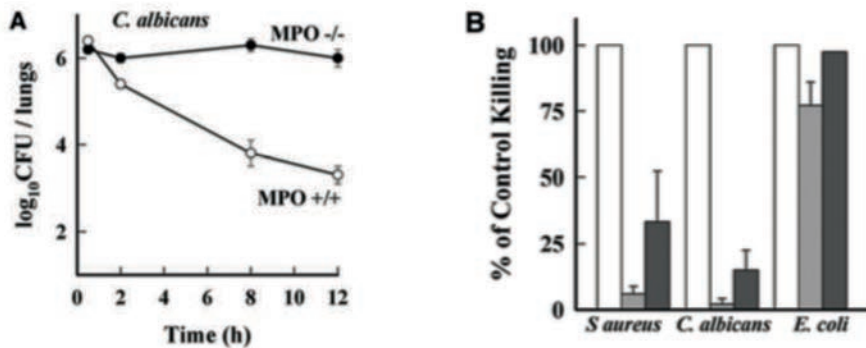


Fig 4. Ineficaz acción microbicida por Deficiencia de MPO A. Infección pulmonaria por *C. albicans* mediada por neutrófilos con deficiencia de MPO medida en horas B. destrucción de microorganismos a los 30 min por neutrófilos normales (barras blancas) y por neutrófilos deficientes (barra gris oscuro).

Tomado de: Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. (2013).

La deficiencia de MPO fue considerada durante mucho tiempo como una enfermedad rara, solo 17 casos conocidos se habían reportado hasta 1979, pero con el desarrollo de técnicas se ha proporcionado un mejor enfoque para el diagnóstico de este trastorno, convirtiéndose en una condición más común hoy día (Pahwa, 2017).

Se ha demostrado que la deficiencia de MPO afecta directamente la vía de NADPH y su aparición está relacionada a causas congénitas que obedecen a un patrón heredado autosómico recesivo con una incidencia de 1-4,000 personas siendo heterocigotos, lo que significa que pueden existir diferentes polimorfismos

en cada alelo del gen *mpo*. Uno de los defectos génicos descritos, es la presencia de mutaciones de reemplazo de arginina por triptófano en la posición 569 de la cadena peptídica de la MPO, que detiene la maduración del precursor; en este caso el resultado es una actividad microbicida más lenta y deficiente (Staines, 2005; Pahwa, 2017). Además, se han descrito más mutaciones asociadas al procesamiento post-traducciona de la proteína precursora de la MPO y otras con defectos pre-traduccionales causados por mutaciones en la porción reguladora del gen *mpo*; encontrando mutaciones asociadas con la forma hereditaria como R569W, Y173C, M251T, R499C y una delección de 14 bases (D14) en el exón 9 del gen *mpo* (Pahwa, 2017; DeLeo, 1998; Nauseef, 1996; Marchetti, C. 2004; Persad, 2018).

Tabla 1. Polimorfismos asociados a la deficiencia de MPO

Polimorfismos y mutaciones de MPO	Descripción
R569W	Sustitución de arginina por triptófano en la posición 569 de la cadena peptídica de la MPO cuando ocurre la sustitución de una timidina por una citosina en el exón 10; esta mutación genera que el grupo “hemo” no se inserte en la proteína MPO y por consiguiente las unidades maduras de MPO no se desarrollen (Pahwa, 2017; DeLeo, 1998; Nauseef, 1996; Ding, 2012; Persad, 2018).
Y173C	Tipo de mutación Missense, que produce un cambio en un único nucleótido provocando la aparición de un codón que codifica para un aminoácido diferente, esta mutación ocurre en el gen MPO en el codón 173 que logra un cambio de tirosina por cisteína (Y173C) afectando la biosíntesis de MPO (DeLeo, 1998; Persad, 2018).

M251T	Se describió por primera vez en un paciente italiano. Ocurre una mutación Missense donde se reemplaza una metionina por una treonina en la posición 251 de la cadena peptídica (Nauseef, 2000; Nunoi, 2003; Persad, 2018).
G463A	Sustitución de una guanina por una adenina en la posición 463, que conduce a una disminución de 25 veces la transcripción de MPO, involucrado en enfermedades inflamatorias (Strzepa, 2017; Zhang, 2013).
R499C	Sustitución de una arginina por una cisteína en la posición 499 de la cadena peptídica, impide la maduración de la enzima MPO. Se encontró en estudios realizados en pacientes japoneses con deficiencia de MPO (Persad, 2018).
Deleción de 14 bases (D14) en el exón 9.	La deleción se considera un elemento regulador exónico que afecta el empalme del exón 9 en el gen, causando disrupción en el proceso de traducción del mRNA (Marchetti, 2004; Nunoi, 2003).

En estudios anteriores se han descrito más polimorfismos en el gen de MPO como rs2071409, rs7208693, que poseen un cambio de la fenilalanina por valina en la posición 53 de la cadena peptídica; sin embargo, se ha demostrado que estos polimorfismos no presentan importancia clínica en el desarrollo de enfermedades e infecciones (Ding, 2013).

Por otro lado, es posible una deficiencia secundaria de MPO que puede desarrollarse debido a mutaciones somáticas del gen *mpo*; esta deficiencia logra ser parcial y solo afecta a una proporción de neutrófilos, convirtiéndose en una forma adquirida a causa de diferentes patologías como la diabetes mellitus, ya que se ha demostrado que durante la hiperglicemia aguda la degranulación de los neutrófilos disminuye; además, pueden aparecer anticuerpos anti citoplasma de neutrófilos (ANCA) dado al desarrollo de enfermedades autoinmunes; de igual forma, la enfermedad gra-

nulomatosa crónica, el embarazo, deficiencia de hierro, trasplante renal, enfermedades trombóticas, envenenamiento por plomo, ictericia obstructiva, cánceres diseminados, trastornos hematólogicos y neoplasias como leucemia mieloide aguda y crónica, y síndrome mielodisplásico, son enfermedades predisponentes a tal deficiencia de la enzima (Pahwa, 2017; Milligan, 2016; Patiroğlu, 2013; Khan, 2018).

Los pacientes con deficiencia de MPO pueden llegar a ser asintomáticos y no aumentar la susceptibilidad a infecciones; sin embargo, se han observado infecciones graves recurrentes con *Candida albicans* en pacientes que padecen de otras afecciones, como la diabetes mellitus, aunque en estos pacientes no está claro si las infecciones son resultado de la deficiencia de MPO o si otros mecanismos independientes de MPO también pueden ser responsables. En un estudio realizado por investigadores europeos, el 50% de los pacientes con deficiencia de MPO completa tenían complicaciones infecciosas, el resto eran asintomáticos y solo el 10% de los pacientes sufría complicaciones infecciosas potencialmente mortales (Pahwa, 2017).

Actualmente, el diagnóstico para la deficiencia de mieloperoxidasa se lleva a cabo mediante la detección de un posible polimorfismo en el gen *mpo*, análisis por citometría de flujo en laboratorios de hematología clínica para la enumeración de PMN con actividad de la enzima mieloperoxidasa; además, se ha desarrollado una técnica de ELISA sándwich para su detección (Patiroğlu, 2013)

Referencias bibliográficas

Anatani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K. & Koyama, H. (2000). Differential Host Susceptibility to Pulmonary Infections with Bacteria and Fungi in Mice Deficient in

Myeloperoxidase. *J Infect Dis.* 182(4), 1276-1279. Disponible en doi:10.1086/315843.

Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K. *et al.* (2004). In vivo role of myeloperoxidase for the host defense. *Jpn J Infect Dis.* 57(5): S15

Carbajal A. (2018). *Extracción y purificación de ADN*. Disponible en <http://www.labome.es/method/DNA-Extraction-and-Purification.html>

DeLeo, F R., Goedken, M., McCormick, S J., Nauseef, W M. (1998). A novel form of hereditary myeloperoxidase deficiency linked to endoplasmic reticulum/proteasome degradation. *J Clin Invest.* 101(12), 2900-2909.

Ding, G., Liu, F., Shen, B., Feng, C., Xu, J., Ding, Q. (2012). The association between polymorphisms in prooxidant or antioxidant enzymes (Myeloperoxidase, SOD2, and CAT) and genes and prostate cancer risk in the chinese population of han nationality. *Clin Genitourin Cancer.* 10(4), 251-255.

Ding, G., Liu, F., Feng, C., Xu, J. & Ding, Q. (2013). Asociación entre los polimorfismos de genes de mieloperoxidasa y la susceptibilidad a cáncer de próstata: Un estudio caso-control en la población de nacionalidad china. *Actas Urol Esp.* 13; 37(2), 79-82.

García, O., Pereira, N. & Flores, R. M. (2018). Enzimas generadoras de especies reactivas del oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Bioméd* 17 (3), 190-197. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403001998000300002&lng=es

Hebecker, B., Naglik, J. R., Hube, B. & Jacobsen, I. D. (2014). Pathogenicity mechanisms and host response during oral *Candida albicans* infections. *Expert Rev Anti-Infective Ther.* 12(7), 867-879. Disponible en doi:10.1586/14787210.2014.916210

Khan, A., Alsahli, M. & Rahmani, A. (2018). Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological

Perspectives. *Med Scie.* 6(2), 33. Disponible en doi:10.3390/medsci6020033

Klebanoff, S.J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol.* 77(5), 598-625. Disponible en <http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.1204697>

Klebanoff, S J., Kettle, A J., Rosen, H., Winterbourn, C C., Nauseef, W M. (2013). Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J Leukoc Biol.* 93(2) pp. 185-198. Disponible en: <http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.0712349>

Marchetti, C., Patriarca, P., Solero, G., Baralle, FE., Romano, M. (2004). Genetic Characterization of Myeloperoxidase Deficiency in Italy. *Hum Mutat.* 23(5), 496-505.

Microbiología e inmunología. México: Universidad de Carolina del Sur, Instituto Politecnico Nacional. Disponible en <http://www.microbiologybook.org/Spanish-immuno/imm-chapter1.htm>

Milligan, K L., Mann, D., Rump, A., Anderson, V L., Hsu, A P., Kuhns, D B. et al. (2016). Complete Myeloperoxidase Deficiency: Beware the “False-Positive” Dihydrorhodamine Oxidation. *J Pediatr.* 176, 204-206. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.05.047>

Murillo, S. (2013). *Incidencia de Candidiasis Vaginal en mujeres gestantes entre las edades comprendidas de 20 a los 35 años de edad atendidas en el Hospital Verdi Cevallos Balda de la ciudad de Portoviejo, 2012-2013.* Disponible en <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1786/1/Tesis Sandra Murillo.pdf>

Nauseef, W M., McCormick, S., Goedken, M. (2000). Impact of missense mutations on biosynthesis of myeloperoxidase. *Redox Rep.* 5(4), 197-206. Disponible en <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/135100000101535753>

Nauseef, W M., Cogley, M., McCormick, S. (1996). Effect of the R569W missense mutation on the biosynthesis of myeloperoxidase. *J Biol Chem.* 271(16), 9546-9549.

Nauseef, W M. (2014). Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. *Cell Microbiol.* 16(8), 1146-1155.

Nunoi, H., Kohi, F., Kajiwarana, H. & Suzuki, K. (2003). Prevalence of Inherited Myeloperoxidase Deficiency in Japan. *Microbiol Immunol.* 47(7), 527-531. Disponible en doi:10.1111/j.1348-0421.2003.tb03414.

Odobasic, D., Kitching, A. R. & Holdsworth, S. R. (2016). Neutrophil-Mediated Regulation of Innate and Adaptive Immunity: The Role of Myeloperoxidase. *J Immunol Res.* 1-11. Disponible en doi:10.1155/2016/2349817.

Pahwa, R., Jialal, I. (2018). Myeloperoxidase deficiency. En: Statpearls. Treasure Island (fl): Statpearls Publishing. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/nbk470278/>

Patiroğlu, T., Eke, H., Belohradsky, JS., Unal, E., Klein, C. (2013). Myeloperoxidase deficiency: the secret under the flag of unstained cell. *Turkish J Haematol Off J Turkish Soc Haematol.* 30(2), 232-233. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24385801> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3878482>

Persad, A S., Kameoka, Y., Suzuki, K. (2006). Arginine to Cysteine Mutation (R499C) Found in a Japanese Patient With Complete Myeloperoxidase Deficiency. *Gene Expr.* 13(2), 67-71.

Staines, A., González, M., Guidos, H., Hernández, V., Espinosa, F. (2005). Inmunodeficiencias por alteraciones en las células fagocitarias: Un desafío para la pediatría. *Alergia, Asma e inmunología pediátricas.* 14 (1), 5-9.

Strzepa, A., Pritchard, KA., Dittel, BN. (2017). Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cell Immunol.* 317(January), 1-8.

Vélez, G. Rocha, Y., Arias, A., López, J. (2018). Función del sistema NADPH oxidasa en la formación de trampas extracelulares de los neutrófilos (NETs). *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 32 (1), 43-56. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000100005&lng=es

Zhang, T., Shan, K.-R., Tu, X., He, Y., Pei, J.-J. & Guan, Z.-Z. (2013). Myeloperoxidase Activity and Its Corresponding mRNA Expression as well as Gene Polymorphism in the Population Living in the Coal-Burning Endemic Fluorosis Area in Guizhou of China. *BioTrace Element Res*, 152(3), 379-386. Disponible en doi:10.1007/s12011-013-9632-9.

