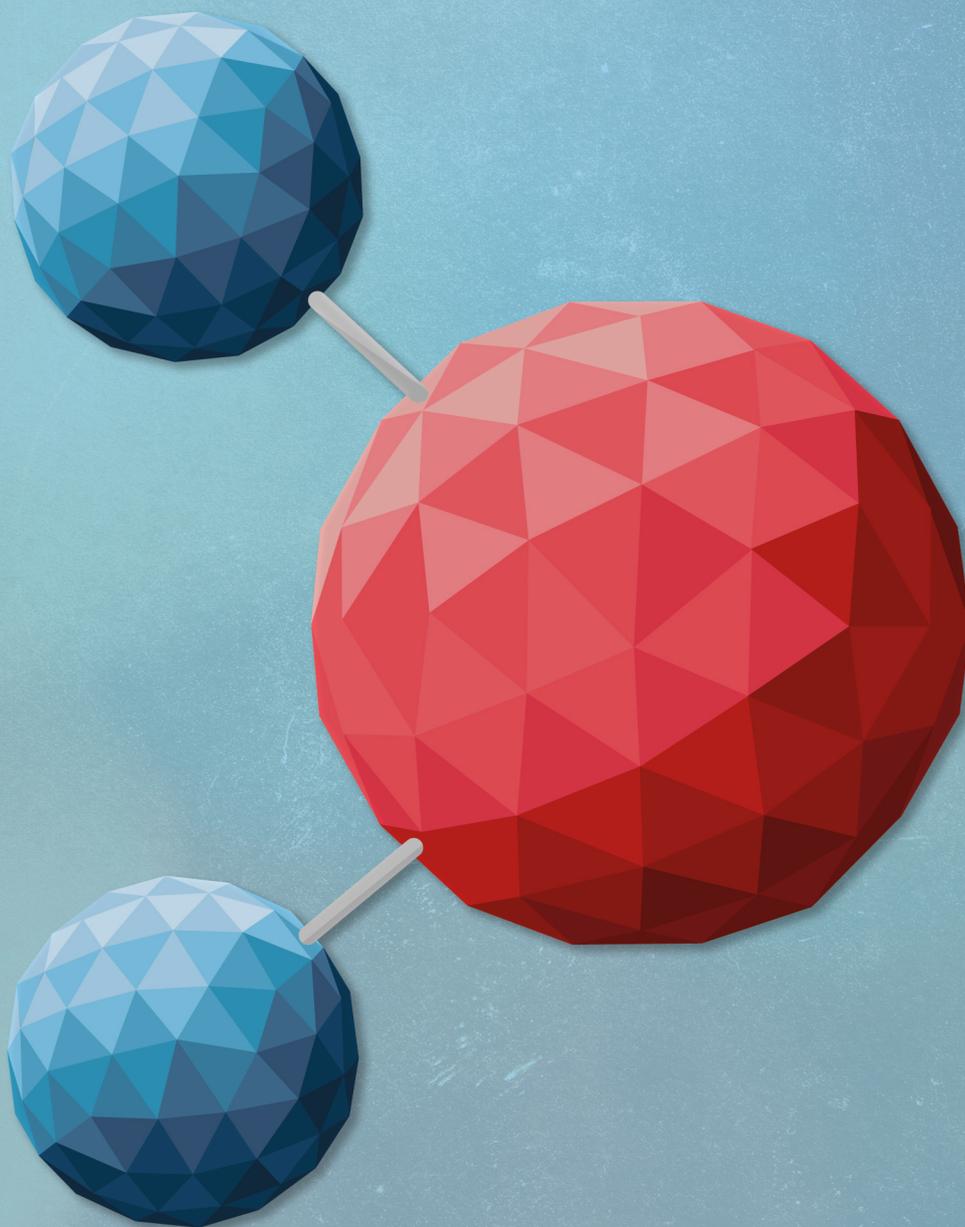


MOLEQLA

Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide

·Número 29·



Portada

Carmen Santisteban Trigo y María Manuela Valverde

Logotipo y Título de la revista

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

Plantilla de la revista

Norberto Díaz Díaz

Editores de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Ambiental: Ana Martín Calvo
MoleQla Celular: Guillermo López Lluch
MoleQla Deporte: Alberto Grao Cruces
MoleQla Energía: Juan José Gutiérrez Sevillano
MoleQla Farmacia: Matilde Revuelta González
MoleQla Médica: Ignacio Javier Cruz Jáuregui Lobera
MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón
MoleQla Forense: Antonio Aguilar García
MoleQla Biotecnología: Cristina Guillén Mendoza
MoleQla Química: Patrick J. Merklings

Responsables de Maquetación Global

Rafael Rastrero Prieto
Francisco Araque Frías

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

Editores

Sofía Calero Díaz
Ana Paula Zaderenko Partida
Juan Antonio Anta Montalvo
Patrick J. Merklings



ISSN 2173-0903

Editado el 21 de marzo de 2018

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Como bien saben todos nuestros autores y lectores, la revista MoleQla, una iniciativa de profesores y estudiantes de la Universidad Pablo de Olavide, es una publicación con cuatro números anuales, que tratan de ser coincidentes con las estaciones del año. Esta coincidencia no deja de ser una guía de motivación, organización y supervivencia, porque, como muy bien se demuestra en este lluvioso año 2018, las estaciones astronómicas no tienen por qué coincidir con las meteorológicas. Todos nos preguntamos: ¿cuándo llega la primavera? Pues no lo sabemos, pero lo que sí sabemos es que por fin ha llegado el número de primavera de MoleQla.

Y es que este número, en la modesta opinión del Equipo Editorial, llega con nuevos e interesantes artículos que esperamos ayuden a nuestros amables lectores a entender la realidad de una forma racional y científica, además de entretenida y amena. Por ejemplo podremos aprender de una forma sencilla cómo se caracteriza en el laboratorio una célula solar utilizando pequeñas perturbaciones eléctricas y luminosas (*Low-Perturbation Optoelectronic Measuring Techniques. What are they and that are they good for?*), o como la lógica “difusa” se puede emplear para predecir la vulnerabilidad de un edificio histórico (*Aplicación de un modelo de predicción de vulnerabilidad en edificios históricos del conjunto histórico de Sevilla*). Nuestra revista siempre se ha destacado por sus artículos en el área de las ciencias biosanitarias. En este número aparecen interesantes trabajos sobre el Alzheimer (*Alzheimer. Antecedentes y terapias novedosas*), el insomnio (*Ramelteón: Un fármaco para la lucha contra el insomnio*) o el cáncer (*Trastuzumab: inmunoterapia contra el cáncer*). MoleQla no olvida los temas de ciencia básica, sin los cuales nunca la ciencia aplicada sería posible (*Nanoemulsions*) ni las Ciencias Ambientales (*Biodegradación en la gestión de residuos, Biotechnological conversion of CO₂ to CH₄*). En resumen, un número muy completo del que de nuevo nos sentimos orgullosos. Muchas gracias a todos los que lo habéis hecho posible, así como a todos los que de forma totalmente desinteresada colaboráis, estación tras estación, con esta publicación de la Universidad.



Juan Antonio Anta

ÍNDICE

1. Moleq̃la Ambiental

- 1.1. Biodegradación en la gestión de residuos
- 1.2. Agar como alternativa al plástico
- 1.3. Biotechnological conversion of CO₂ to CH₄

2. Moleq̃la Celular

- 2.1. La anafilaxia y la adrenalina
- 2.2. Modulación de la respuesta inmune tras isquemia/reperfusión: inyección de células apoptóticas
- 2.3. Alzheimer. Antecedentes y terapias novedosas

3. Moleq̃la Deporte

- 3.1. Ejercicio físico en la Fibromialgia

4. Moleq̃la Energía

- 4.1. Low-Perturbation Optoelectronic Measuring Techniques. What are they and that are they good for?

5. Moleq̃la Farmacia

- 5.1. Ramelteón: Un fármaco para la lucha contra el insomnio
- 5.2. ¿Se puede potenciar la acción de un fármaco controlando la hora de su administración?
- 5.3. Trastuzumab: inmunoterapia contra el cáncer

6. Moleq̃la Médica

- 6.1. Efectos de los medicamentos en el medio ambiente
- 6.2. Nanoemulsions

7. Moleq̃la Patrimonio

- 7.1. Aplicación de un modelo de predicción de vulnerabilidad en edificios históricos del conjunto histórico de Sevilla

8. Moleq̃la Forense

- 8.1. Popper, el elixir sexual
- 8.2. Jaime Perich: “La penicilina se inventó por casualidad, el napalm no”

9. Moleq̃la Biotecnología

- 9.1. Células CAR-T: Una nueva terapia contra la leucemia

10. Moleq̃la Química

- 10.1. La química al servicio del Holocausto
- 10.2. Venenos el arma femenina por excelencia
- 10.3. Estafas millonarias: El arte bajo ojo químico

Biodegradación en la gestión de residuos.

Francisco Javier Sánchez Pérez

Resumen—La biodegradación es un proceso que está creciendo como alternativa considerable en muchos campos relacionados con el medio ambiente como la gestión de residuos para conseguir disminuir los impactos negativos de estos sobre el medio que les rodea llevándose a cabo de manera ecológica y sostenible.

Palabras Claves— Biodegradable, biodegradación, landfill, degradación aerobia, degradación anaerobia, agente biológico.



1. INTRODUCCIÓN

Un producto biodegradable es aquella sustancia que se puede descomponer en los diferentes elementos químicos que lo forman por la acción de agentes biológicos en las condiciones ambientales naturales.

Estos agentes biológicos, como pueden ser plantas, animales o microorganismos, utilizan estas sustancias biodegradables como alimento o sustrato para producir energía, nuevos tejidos, etc. No todas las sustancias son biodegradables, depende de diversos factores como la estabilidad de la molécula, el medio en el que estén y las enzimas de los agentes descomponedores.

La biodegradación puede utilizarse con distintos fines y en diferentes ramas como: biomedicina, gestión de residuos, ecología, biorremediación...

Un campo interesante en el que fijar nuestra atención es la biodegradación para la gestión de residuos, ya que es un tema preocupante desde el punto de vista ambiental. La posibilidad de utilizar técnicas de biodegradación en este campo esta adquiriendo un gran protagonismo en los últimos años.

2. BIODEGRADACIÓN

2.1. Definición

La biodegradación consiste en la descomposición de una sustancia biodegradable en los diferentes elementos químicos por los que está formada.

Este proceso se consigue por la acción de plantas, animales, microorganismos, algas y hongos (agentes biológicos) que utilizan estas sustancias para realizar cualquiera de sus actividades vitales de manera que mediante los procesos metabólicos realizados en su interior estas sustancias se convierten en elementos químicos más simples que luego pueden ser excretados del propio individuo o incorporados a sus tejidos u órganos.

La biodegradación puede ocurrir en el agua, tierra vegetal o el suelo y puede ser total produciendo CO_2 (condiciones aerobias) o CH_4 (condiciones anaerobias), agua, sales, minerales, etc; y parcial alterando la estructura química del material y la pérdida de sus propiedades específicas. [1]

2.2. Vías de degradación

La degradación puede realizarse siguiendo dos vías. Por un lado puede ser degradación aerobia, en la que los organismos degradan en presencia de oxígeno. Y también puede ser anaerobia, en la que la degradación se produce en ausencia de oxígeno. [2]

La principal diferencia entre ambas es que en la degradación aerobia se obtiene como producto CO_2 y en la degradación anaerobia se obtiene CH_4 . Con lo cual si comparamos entre ambas la primera es más conveniente que la segunda ya que el CH_4 es un gas de efecto invernadero más potente que el CO_2 . [3]

3. FACTORES QUE AFECTAN A LA BIODEGRADACIÓN

Un aspecto a tener en cuenta a la hora de realizar procesos de biodegradación es las distintas tasas de biodegradación de las diferentes sustancias biodegradables. Estas tasas dependen de varios factores.

Por un lado influyen las condiciones del medio en el que se encuentran ya que la cantidad de luz, oxígeno, temperatura, agua, pH, etc deberán ser las apropiadas para cada caso.

También influyen las características físico-químicas del contaminante o sustancia a biodegradar ya que su composición o estructura afectara a la biodegradabilidad de este haciéndolo más o menos difícil de degradar y por lo tanto más o menos rápido el proceso. [4]

4. PRODUCTOS BIODEGRADABLES

Los productos biodegradables nos aportan ventajas muy valiosas para la actualidad, cuando prima en abundancia el hecho de tener una visión ambientalmente sostenible.

Estos productos se descomponen en periodos de tiempo corto, dando la posibilidad además de poder reutilizarlos para multitud de fines o por el contrario simplemente se reintegrarían en la naturaleza sin producir impacto negativo alguno. [2]

En nuestra vida cotidiana encontramos y utilizamos muchos productos biodegradables como: jabón, pañales, papel higiénico, cajas o los bioplásticos. Esto refleja que en los últimos años se están realizando grandes pasos hacia unas prácticas más sostenibles, de manera que estos productos podrán volver a reutilizarse en un futuro cercano,

cosa que antes no era posible.

5. BIODEGRADACIÓN DE RESIDUOS

La generación de residuos en las diferentes actividades diarias que lleva a cabo la sociedad en la actualidad es algo inevitable.

Con el crecimiento de la población la generación de residuos va en aumento también, lo cual tiene un impacto negativo enorme sobre el medio ambiente. En ocasiones estos residuos pueden ser peligrosos y ocasionar consecuencias casi irreversibles si no se actúa adecuadamente.

Como consecuencia, en los últimos años se está investigando cada vez más sobre este aspecto y la posibilidad de realizar procesos de biodegradación en este tema. Además ya son muchas las técnicas de biodegradación que se utilizan para la gestión de residuos. [5][6]

Poniendo el foco de atención en los residuos peligrosos, ya que se suelen generar en gran cantidad en muchas de las actividades diarias y cotidianas del ser humano y en actividades industriales, en el siguiente apartado se exponen dos casos de estudios y experimentos que nos indican el aumento de estos en este campo.

6. INVESTIGACIÓN DE BIODEGRADACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

Un tema de gran interés por la zona en la que vivimos podría ser la gestión de aguas residuales generadas en la industria de la aceituna, muy importante en países mediterráneos. Se están realizando estudios sobre este tema para tener un conocimiento mayor sobre las diferentes soluciones que se podrían tomar.

Las aguas residuales de procesamiento de aceitunas de mesa suponen un problema ambiental peligroso en los países mediterráneos debido a sus grandes volúmenes, alta materia orgánica y concentración de sales. Varias tecnologías químicas, biológicas o combinadas han demostrado su eficacia para reducir la contaminación y toxicidad de estos efluentes. Los procesos biológicos son los métodos más compatibles con el medio ambiente y menos costosos, pero no siempre generan resultados satisfactorios [5].

Otro tema de gran interés es la gestión de aguas residuales producidas en la industria farmacéutica, también de gran importancia en la actualidad en la mayoría de los países desarrollados.

En estudios recientes se propuso un sistema de tratamiento múltiple para estas aguas que contienen el antibiótico amoxicilina. Se trató con ozono primero y después combinado con biodegradación aeróbica. Los resultados fueron buenos utilizando ozono para eliminar el color original de las aguas residuales y alcanzando una efectividad del 99%. Sin embargo en el tratamiento combinado se obtuvieron mejores resultados degradando más del 99% de amoxicilina, más del 98% de DQO (Demanda Química de Oxígeno) y el 90% de la toxicidad inicial, además de realizarlo con una eficiencia mayor [6].

Estos resultados dejan en buen lugar la alternativa de la

biodegradación para la eliminación de este tipo de residuos.

7. NUEVAS TÉCNICAS DE DEGRADACIÓN EN VERTEDEROS.

Continuando con el tema de gestión de residuos, de sobra se conoce la importancia también de la gestión de los residuos que van a parar a los vertederos. En este campo se han abierto también investigaciones y se han puesto en marcha procesos de degradación que, aunque en estos casos no se utilizan agentes biológicos, suponen también una alternativa a tener en cuenta con resultados favorables y sostenibles.

Tradicionalmente los residuos de los vertederos eran enterrados y se esperaba a que estos compuestos orgánicos se degradaran naturalmente. Pero en las últimas décadas se están desarrollando nuevas técnicas aeróbicas que consisten en estabilizar los residuos con mayor rapidez que los métodos tradicionales.

Estas técnicas (*landfill*) son desarrolladas por *Environmental Control Systems*, que son instalaciones que suministran aire y control térmico, en este caso, de manera que inyecta aire y humedad directamente a los residuos. [7]

El funcionamiento se desarrolla de la siguiente manera: el aparato inyecta humedad en la parte superior de la masa de residuos para, posteriormente, inyectar aire y hacer que los lixiviados desciendan de manera que se aumenta la velocidad de degradación. Luego a la vez que el sistema genera calor, la humedad se evapora, el remanente es recolectado y bombeado a un tanque de almacenamiento para reutilizarlo posteriormente, formando un ciclo cerrado.

La degradación tarda entre uno y tres años y da lugar a un producto no tóxico que puede ser extraído y reutilizado.

Los beneficios principales son la no producción de metano, gas de efecto invernadero muy potente; se elimina el tratamiento de los lixiviados en más del 95%, lo que supone un ahorro energético; se eliminan compuestos orgánicos volátiles, que pueden ser contaminantes del aire o precursores del ozono troposférico, y olores; no se contaminan aguas subterráneas ya que se evita la filtración de lixiviados y otros residuos mediante rellenos y barreras; y por último se reducen costes por la larga vida útil de la maquinaria. [8]

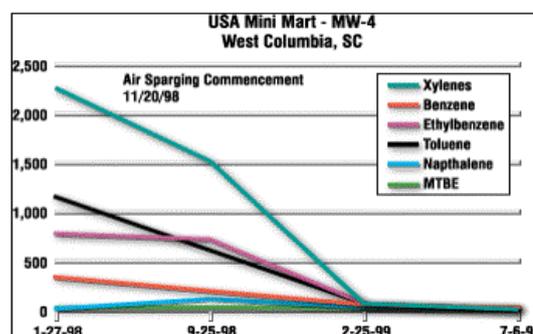


Fig. 1. Reducción de contaminantes en una llanura costera en experimento realizado en USA. [8]

Como se puede ver en la figura 1, se representa un experimento sobre estas técnicas de *landfill* realizado en USA en el que se mide la concentración de diferentes sustancias contaminantes en un vertedero en diferentes meses, desde el 27 de Enero de 1998 al 6 de Julio de 1999. Se puede observar el descenso de la concentración de estos a lo largo de los meses gracias a la insuflación de aire en el lugar.

Por lo tanto podemos ver aquí mediante datos reales la eficacia de estos tratamientos que cada vez están adquiriendo una importancia y uso mayor.

8. CONCLUSIONES

En definitiva, la biodegradación y fabricación de productos biodegradables se están convirtiendo cada vez más en alternativas a tener en cuenta en muchos campos, como el de la gestión de todo tipo de residuos para conseguir minimizar los impactos de estos de una manera sostenible y ecológica sin producir impactos secundarios en estos procesos.

Aún queda camino por recorrer para conocer todas las ventajas y desventajas que estas técnicas nos pueden aportar y la manera más eficiente en la que podemos aplicarlas en cada campo pero hasta el momento la investigación y experimentación en algunos casos nos han dejado buenos resultados.

Por otro lado, las técnicas de degradación también están en auge y en el caso de la gestión de residuos hay ya evidencias de que su puesta en marcha nos permite almacenar o eliminar residuos minimizando sus impactos negativos sobre el medio ambiente.

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a Sofía Calero Díaz por su orientación a la hora de elegir tema del artículo y la manera en que afrontarlo.

Referencias

- [1] <https://es.wikipedia.org/wiki/Biodegradabilidad>
- [2] <https://www.ecologiaverde.com/biodegradabilidad-ejemplos-de-productos-biodegradables/>
- [3] <http://noticiasdelaciencia.com/not/11597/metano-y-dioxido-de-carbono-evaluar-en-su-justa-medida-el-efecto-invernadero-ejercido-por-cada-uno/>
- [4] <http://microbiologia3bn.blogspot.com.es/2012/05/microbiologia-en-la-biorremediacion.html>
- [5] Ayed L, Asses N, Chammem N, Ben Othman N, Hamdi M, "Advanced oxidation process and biological treatments for table olive processing waste waters: constraints and a novel approach to integrated recycling process: a review".

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28116618>

- [6] Marcelino RBP, Leao MMD, Lago RM, Amorim CC, "Multi-stage ozon and biological treatment, system for real wastewater containing antibiotics".
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157699>
- [7] [https://en.wikipedia.org/wiki/Environmental_control_system_\(aircraft\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Environmental_control_system_(aircraft))
- [8] <http://www.ingenieroambiental.com/?pagina=887>



Francisco Javier Sánchez Pérez alumno del Grado de Ciencias Ambientales en la Universidad Pablo de Olavide.

Agar como alternativa al plástico

F° Javier Pardina Miñón

Resumen—El agar es utilizado en varios sectores debido a los beneficios que presenta, en concreto, tiene especial interés en la química verde ya que se ha desarrollado un “plástico” biodegradable cuyo principal componente es el agar, pudiendo ser una alternativa al plástico sintético.

Palabras Claves— Agar, Desarrollado, Biodegradable, Plástico.

1. INTRODUCCIÓN

La química verde va dirigida hacia el diseño de productos y procesos químicos que reduzcan o prevengan la contaminación. Esta filosofía química se rige por doce mandamientos, de los cuales nos centraremos en el décimo mandamiento que corresponde a los productos biodegradables que consiste en que los productos químicos deben de diseñarse de manera que al final de su función éstos no persistan en el medio ambiente y se degraden a productos inocuos.

El agar es un extracto de color blanco-crema que se obtiene a partir de distintas especies de algas rojas, principalmente del género *Gelidium* ya que es la de mayor calidad y pureza, y aunque principalmente se recogen en el Océano Atlántico, también las podemos encontrar en el Mar Cantábrico y Océano Pacífico. Dicha sustancia es un polisacárido compuesto por galactosa y se encuentra en la pared celular de las algas.

2. PROCESO DE OBTENCIÓN DE AGAR

El agar se comercializa en forma de copos, barras, polvo o tiras, pero el agar en polvo y copos son los que presentan mayor proporción de fibra natural por estar más concentrado.

Para la obtención del agar, primero se recogen las algas y se llevan a la fábrica, donde son lavadas para eliminar los restos de sal y arena que pudieran tener. Una vez lavadas, se depositan en unos tanques de grandes dimensiones llenos de agua y se les somete a altas presiones para extraer el agar de las algas rojas. En este momento, se tiene el agar disuelto en el agua y por medio de un proceso de filtración, se eliminan los restos de todas las algas. A continuación, se prensa el agar disuelto y se seca para finalmente hacer uso de unas trituradoras, otorgándole la forma deseada al producto [1].

3. SU USO EN LOS DISTINTOS SECTORES

Actualmente, el 90% del agar que se comercializa está destinado al sector alimenticio ya que es muy rico en fibra y minerales, ayudando de este modo a regular el tránsito intestinal, colesterol, diabetes y previene el sobrepeso. Debido a su capacidad de absorber agua, es utilizado pa-

ra espesar y gelificar alimentos, ya sean dulces o salados, sin aportar ningún tipo de color ni sabor ya que es incoloro e insípido [2]. Además, es muy usado en dietas de adelgazamiento a causa de su bajo aporte calórico y a su aumento en la sensación de saciedad, siendo usada también en dietas veganas ya que es una alternativa a la gelatina animal.

El 10% restante se utiliza en el sector de la biología molecular para la fabricación de laxantes, antibióticos y vitaminas [1]. También es usado en medios de cultivo debido a la carga neutra y al bajo grado de complejidad del agar que hace poco probable que interaccione con biomoléculas, como es el caso de las proteínas o ácidos nucleicos.

4. NUEVOS USOS DEL AGAR

4.1. Material para embalajes

El equipo AMAM, constituido por un trío de diseñadores japoneses llamados Kosuke Araki, Noriaki Maetani y Akira Muraoka, han puesto en marcha el proyecto “Agar plasticity, a potential usefulness of agar for packaging and more”, que consiste en el uso del agar para fabricar un nuevo material con la finalidad de empaquetar y proteger mercancías [3].



Fig. 1. Variedad de artículos fabricados, por el equipo AMAM, a partir de agar.

El proyecto ha sido galardonado con el premio de diseño Lexus 2016, destinado a jóvenes innovadores. Además, esperan poder contar con prototipos de nivel industrial

para el año 2020, con esperanzas de comercializar los productos que han fabricado con agar.

El equipo ha trabajado en tres materiales experimentales diferentes: polvo de agar puro, polvo de agar combinado con fibras extraídas de algas rojas, y polvo de agar mezclado con cenizas de conchas marinas.

- Con el polvo de agar han desarrollado una delgada película transparente y una almohadilla de relleno.

- Combinado con fibras han conseguido obtener un material con distintas durezas y espesores que puede ser usado como envoltura para flores y botellas de vino, o bien moldeado para fabricar cajas.

- Con la mezcla de polvo de agar, cenizas de concha y agua, han conseguido fabricar un material que puede ser moldeado para adoptar formas más complejas y que tiene potencial para ser extraído industrialmente, incluso el equipo ha afirmado que "podría ser utilizado como un material para la construcción, como un azulejo de la pared, por ejemplo".

En la Figura 1 puede verse una variedad de sus artículos fabricados.

Además, puede ser reutilizado como fertilizante ya que contiene un gran aporte de vitaminas, e incluso puede arrojarse al océano o rellenar un terreno, ya que se biodegrada muy rápidamente [2].

4.2. Botella biodegradable

El diseñador islandés Ari Jónsson, ha fabricado una botella biodegradable a partir del agar, este descubrimiento podría conducir a métodos para dar salida a los más de 50 millones de toneladas de plástico producidos en el mundo cada año [4].

Para la fabricación de esta botella, se mezcló agar en polvo con agua hasta obtener una consistencia gelatinosa, y posteriormente se introdujo en un molde que se sometió a muy bajas temperaturas, el resultado fue la botella que puede observar en la Figura 2.



Fig. 2. Botella fabricada a partir de agar.

Una de las "desventajas" de esta botella es que en sí no tiene un buen aspecto, debido a que ha sido realizada de forma artesanal con materiales orgánicos naturales y no ha recibido ningún tipo de procesamiento ni de tratamiento, ya que es un prototipo, además, el agua contenida en la botella presenta, al tiempo, un ligero sabor a algas.

La particularidad de esta botella es que mientras contenga

agua en su interior conservará su forma pero una vez que se vacía, la botella se descompone en menos de siete días [5]. Se puede observar el proceso de descomposición en la Figura 3.



Fig. 3. Proceso de descomposición (de derecha a izquierda) de una botella fabricada con agar.

5. CONCLUSIONES

El agar parece ser una gran alternativa al plástico sintético, pudiendo reducir en gran medida la acumulación de estos que se generan en los fondos marinos y se evitarían la generación de lo que se conoce comúnmente como "islas de plástico" que están siendo un gran problema para el medioambiente. Creo que es importante añadir que usando plásticos fabricados a partir de agar también evitaríamos que muchas especies animales, sobretodo las marinas que son las que se ven más afectadas, sufrieran las consecuencias de los plásticos sintéticos, no solo eso sino que algunas especies podrían usar los plásticos de agar como alimento, teniendo así el doble de motivos para promover la idea de usar dichos plásticos.

Es cierto que *a priori* el beber de las botellas de plástico procedentes del agar puede generar un poco de rechazo debido a su aspecto y por el sabor característico que presentaría el agua contenida en ellas, pero dicha botella es solo un prototipo, se podría investigar a cerca de como solventar estas desventajas que actualmente presenta.

En definitiva, tanto los plásticos para empaquetar como la botella fabricados con agar son dos grandes propuestas que todos deberíamos considerar. Sin duda alguna el planeta nos agradecería que cuidásemos el medio ambiente y aquí tenemos expuestas ideas muy buenas.

REFERENCIAS

- [1] Web del AlliumHerbal. <http://www.alliumherbal.com/articulos/alimentacion-ecologica-edulcorantes-y-sales/que-es-el-agar-agar.html> (Enlace web)
- [2] Web de ElTiempo. <http://www.eltiempo.com/vida/ciencia/agar-el-alga-que-sirve-como-plastico-natural-60772> (Enlace web)
- [3] Wel del equipo AMAM. <https://www.a-ma-m.com/> (Enlace web)

- [4] Web del PlayGroundMag. http://www.playgroundmag.net/noticias/actualidad/botella-sustituye-plastico-puedes-comer_0_1723627639.html (Enlace web)
- [5] Web de MicroSiervos.
<http://www.microsiervos.com/archivo/ecologia/botella-agua-hecha-algas-biodegradables-verdad.html> (Enlaca web)



Fº Javier Pardina Miñón
Estudiante de Ciencias Ambientales de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Biotechnological conversion of CO₂ to CH₄

Álvaro Feliu Carrizosa, Miriam Campillo Prados, Luis Castillo Cantero, Enrique J. Clavijo Bernal

Abstract—The environmental crisis is prompting scientists all over the world to look for solutions that lead to pollution reduction and optimization of chemical processes and resources. Some research groups are coming up with alternative techniques to convert carbon dioxide to reduced carbon molecules, such as methane. Their objective: to recycle CO₂ emissions and decrease the levels of this gas in the atmosphere.

Key Words—Archaea, Carbon Dioxide, Dicathode, Energy, Methane, Nitrogenase, Sabatier process.

1. INTRODUCTION

Global warming is an important issue that affects any living being nowadays. Carbon dioxide is a greenhouse gas that is causing dramatic effects on Earth's climate, such as a global temperature increase and changes in ecosystems which can be hardly reversible. Scientists all over the world are trying to work out novel methods to reduce the atmospheric concentration of this gas by converting it into reduced forms. Their objective is to recycle it and to produce energetically efficient forms of matter, which subsequently may be used in energy generation without a net increase in the overall CO₂ concentration. This is what is called a "carbon neutral" process. Renewable methanogenesis is a carbon-neutral technique that permits the generation of CH₄ from CO₂ enabling the generation of a source of energy from a waste product. Due to its potential, lots of ways to carry it out have been probed so far.

In this article, we will focus on some of these engineering methods: the theoretical basis, thermodynamic and kinetic feasibility and its possibilities to get real benefits from them. The main goal of all of them is to reduce carbon dioxide emissions and to exploit natural resources while taking advantage of the byproducts generated during the process.

2. SABATIER PROCESS

In 1913, Paul Sabatier discovered a way of obtaining CH₄ from CO₂ and H₂. The most widely accepted mechanism consists of a combination of a reversed endothermic water-gas-shift-reaction (R.2) and an exothermic CO methanation (R.3). This reaction is called the 'Sabatier process'.

2.1. Reaction mechanism.

The reaction has hydrogen and carbon dioxide as substrates, yielding methane and water as end products.



The intermediate steps are the following:



Even though this process is promising, its high temperature requirements to speed it up (300-400 °C) mean an extra source of energy or an adequate catalyst, which complicates its setup. As shown in Figure 1, when temperature increases, methane concentration also does; nevertheless, it happens up to a certain temperature (around 600 °C) in which carbon deposition may occur and catalysts become unstable. Instances of catalysts which improve the efficiency of the process and lower the energy inputs are nickel and aluminium oxide. Regarding the second diagram, in a temperature range of 200-500 °C, increments in pressure are effective up to a point in which a higher reaction efficiency is not reached.

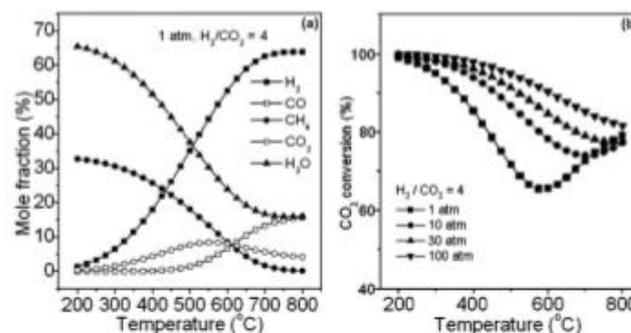


Fig. 1. Sabatier Process [1]

3. METHANOGENIC ARCHAEA

Among archaea there is a specific phylum named methanogens, characterized by their slow growth, intolerance to oxygen and methane production. Because of their unique metabolic activities, these organisms are being taken into consideration in the development of different biotechnological processes, industrial applications, the creation of new alternative green energy production processes, etc. In fact, they are considered a biological

candidate for resolving many environmental issues. [2]

Nevertheless, the assignments of isolating bacteria remains over-scrupulous. This happens because archaea cells grow really slowly and their intolerance to oxygen does not allow its development in oxygenic atmospheres.

Having carried out different studies on methane fermentation, methanogenic archaea use H₂, alcohols up to pentanol and fatty acids up to five carbons for the reduction of CO₂ to CH₄. However, mesophilic or thermophilic methanogenic archaea have never been found growing in other alcohols rather than methanol or on carboxylic acids other than formate or acetate. [3]

3.1. Metabolism of CO₂ (Sabatier process *in vivo*).

The methanogenic archaea family owns a set of reactions able to convert carbon dioxide to methane through a series of enzymatic complexes and cofactors. There is a need of a high partial pressure of hydrogen (as a proton and electron donor) and a lower concentration of carbon dioxide (as a substrate). The end products are methane and newly reduced coenzymes, capable to transform CO₂ molecules.

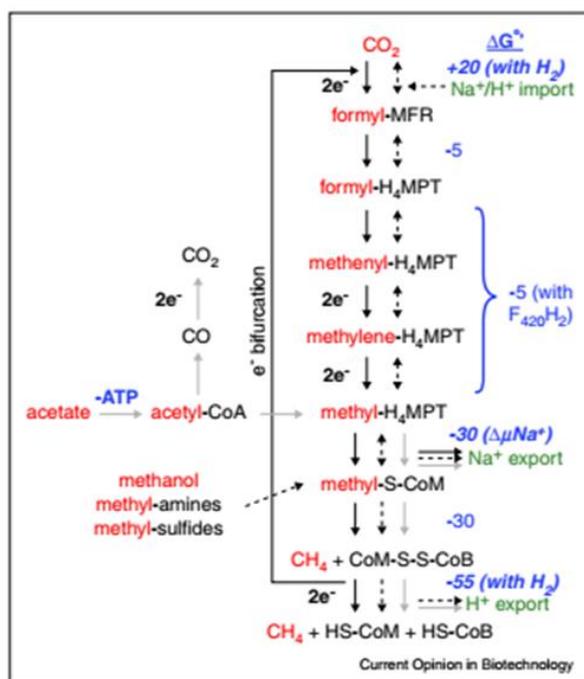


Fig. 2. Reactions in Archaea metabolism [5]

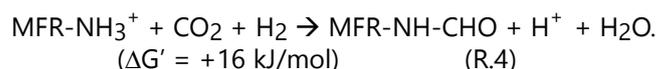
The synthesis of formyl-methanofuran and the reduction of the heterodisulfide (CoM-S-S-CoB) of coenzyme M (HS-CoM) and coenzyme B (HS-CoB) are two crucial, H₂-dependent reactions in the energy metabolism of methanogenic archaea.

Methanothermobacter thermautotrophicus is a methanogenic Archaeon that derives the energy for autotrophic growth from the reduction of CO₂ with molecular hydrogen as the electron donor. The process of methanogenesis consists of a set of reduction reactions at which the one-carbon unit derived from CO₂ is bound to C1 carriers of unique nature. From a bioenergetic point of

view, three reactions are of importance, notably the **formation of formyl-methanofuran**, the **N⁵-methyl-tetrahydromethanopterin: coenzyme M-methyl transfer step** and the **H₂-dependent reduction of CoM-S-S-CoB**. [6]. The reactions concerning CO₂ fixation and CH₄ production are, as shown in Figure 2, the ones below:

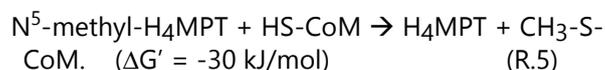
1) Formyl-methanofuran synthesis: $\Delta G' = +10$ to $+35$ kJ/mol. This depends on the applied partial pressure of hydrogen. Anyway, it is an endergonic reaction requiring metabolic energy input (either by coupling it to an exergonic reaction or by net ATP expenditure). It is coupled to a Na⁺ transport process, thermodynamically favourable. Looking at the experiments, the reaction should be driven by the import of a variable number of two to four sodium ions.

Formyl-methanofuran (*MFR-NH-CHO*; *f-MFR*) \rightarrow 4-[*N*-(4,5,7-tricarboxy-heptanoyl- γ -l-glutamyl-*p*-(β -amino-ethyl)-phenoxy-methyl]-2-(aminomethyl)-furan (methanofuran)) synthesis represents the first step in methanogenesis. In this step, CO₂ is bound to methanofuran (MFR-NH₃⁺; MFR) and subsequently reduced to the formyl state with electrons derived from hydrogen (reaction 1). [6]

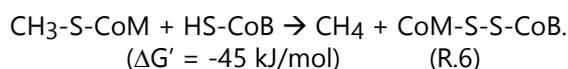


2) Transfer of formyl group, dehydration and reduction (non-relevant in bioenergetics): Following the transfer of the formyl group to 5,6,7,8-tetrahydromethanopterin (H₄MPT), a dehydration step and two subsequent reduction reactions (that consume hydrogen), N⁵-methyl-H₄MPT is produced. [6]

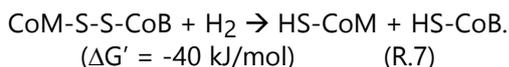
3) Transfer of methyl group to coenzyme M: Downstream, the methyl group is transferred to the CoM. This exergonic reaction is catalysed by the membrane complex methyltransferase. The free energy of this reaction enables the pumping-up of sodium ions, thus coupling that to the first reaction (1). [6]



4) Formation of methane: the coenzyme M is released from the methyl group by the reduced coenzyme B. This is an exergonic reaction catalysed by two different methyl reductases. [6]



5) Reduction of the coenzymes: hydrogen donates electrons to reduce the enzymes and start the cycle. The energy released in the reaction is conserved by the export of protons with the concomitant generation of an electrochemical proton gradient. [6]



The above-given Gibbs free energy changes associated with the formyl-methanofuran dehydrogenase and heterodisulfide reductase reactions apply to standard conditions. Actual free energy changes ($\Delta G'$) depend on the cellular concentration of the reactants, including the dissolved hydrogen partial pressure (p_{H_2}). In natural habitats and during growth in the laboratory, hydrogen concentrations may differ by orders of magnitude. Obviously, the differences in p_{H_2} will affect the free energy changes of the reactions. Moreover, the methanogens have to control the pmf (proton-motive force) and smf (sodium-motive force) over a broad range of hydrogen concentrations, possibly by adapting proton and sodium translocation stoichiometries. Under the intracellular conditions, the reaction is spontaneous. The difficulty resides in the complex methods needed to get the bacteria cultures and to create actively CO_2 reducing systems based on bacteria. As depicted in Figure 3, a p_{H_2} of 0.1 bar is the limit at which the thermodynamic efficiency does not increase any more. This happens due to the fact that the cell's enzymes have all their catalytic sites occupied.

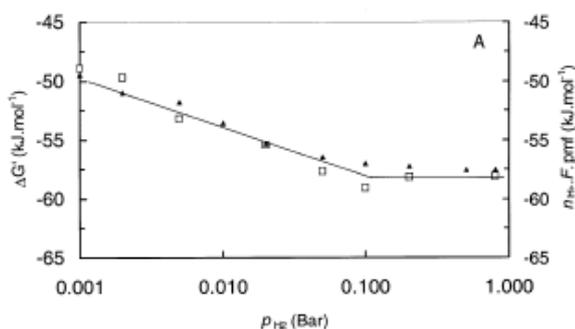


Fig. 3. Increasing of the thermodynamic feasibility with the p_{H_2} [6]

4. GENETICALLY MODIFIED NITROGENASE

Nitrogenase is an essential enzyme for life sustainability as it reduces molecular nitrogen to nitrogen forms suitable for cells. A modified version of nitrogenase in two amino acids residues is known to reduce carbon dioxide to methane using the same mechanism. Through genetic engineering a new bacterial strain has been developed emulating a biocatalyst capable of light-driven carbon dioxide reduction to methane *in vivo*. The modification was introduced by homologous recombination; not only did it just modify a couple of nucleotides, but also the gene's transcription factor ensuring the enzymes production under all conditions. [7]

The energy supply required in this process is provided by photophosphorylation, therefore this process is highly related to light intensity. Reducing power generated in photosynthesis may either end up being used in metabolites biosynthesis or in carbon dioxide reduction. Despite the fact that these two processes compete for the

electrons, causing inefficiency regarding the nitrogenase activity, it is possible to uncouple these processes by the supply of an artificial electron carrier, like thiosulfate. [7]

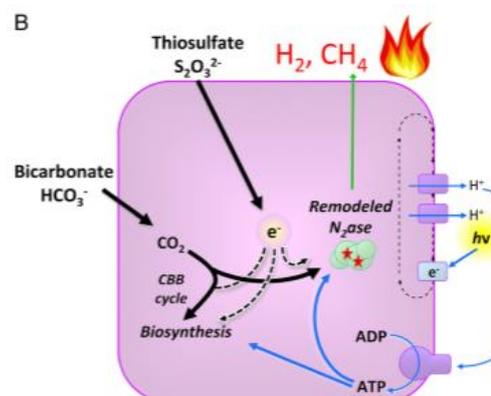


Fig. 4. Genetically modified nitrogenase activity [7]

As protons are needed for nitrogen or carbon dioxide reduction, this reaction is favoured under acidic conditions. As pH increments, the hydrolysis of more ATP may become essential to reduce the molecules. Ammonia's formation Gibbs free energy in standard conditions is $\Delta G^\circ = -79.31 \text{ kJ}$ while it is $\Delta G' = 80,53 \text{ kJ}$ in the biochemical standard, reason why in this kind of bacteria a numerous amount of ATP and reducing power is demanded. [10]. As it can be observed in Figure 4, thiosulfate can add additional electrons, yielding higher final concentrations of methane and enough reducing power to keep up the basal metabolism (minimum level of reactions for the cell to survive). Bicarbonate is the dissolved form of CO_2 . The modified nitrogenase requires ATP to function. This energetic molecule is synthesised through an electron transport chain that pumps protons against their electrochemical gradient, yielding a negative free energy that permits the generation of ATP.

Future studies will focus on manipulating light, electron flux, and nitrogenase itself to improve CO_2 reduction to CH_4 . As well, other nitrogenase isozymes could enable even greater expansion of the catalytic repertoire of nitrogenase.

5. DICATHODE

Methane can straightaway be produced using a biocathode containing methanogens in electrochemical systems (abiotic anode) or microbial electrolysis cells (MECs; biotic anode) by a process called electromethanogenesis. This procedure consists of the production of methane by direct biological conversion from electrical current and carbon dioxide. A microbial electrolysis cell (MEC) is a method related to microbial fuel cells (a bio-electrochemical system that drives an electric current by using bacteria and simulating bacterial interactions found in nature). Whilst MFCs set an electric current from the decay of organic compounds, MECs partially reverse the process to generate methane by applying an electric current.

As illustrated in Figure 5, when a potential of less than -0.7 V (vs Ag/AgCl) was reached, carbon dioxide was reduced to methane using a two-chamber electrochemical reactor containing an abiotic anode, a biocathode, and a metal catalyst. [8]

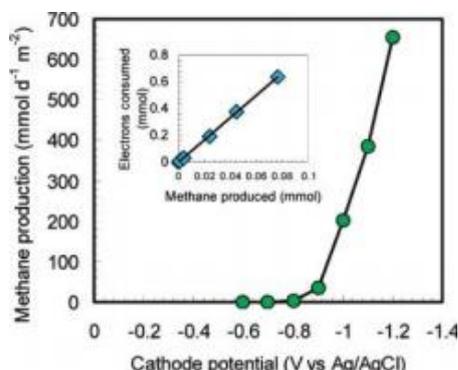


Fig. 5. Methane production efficiency in a microbial fuel cell [8]

6. APPLICATIONS

Making proper use of the above-mentioned techniques, a wide range of applications may evolve positively towards human usage.

One of the greatest applications of carbon dioxide conversion into methane is **biogas** production. It consists of a methane-rich gas which is frequently used as fuel and a source of nutrients for fertilisers.

Considering possible applications, it is essential to take into account that the methane produced is to be kept under isolating conditions, avoiding its diffusion in the atmosphere (it is a greenhouse gas with a global warming potential much more intense than CO₂)

Food waste or other feed materials as cattle dung are used to produce biogas. This way, indoor air greenhouse gas emissions are decreased, improving atmospheric conditions. When this is used, global warming potential could be reduced by 83% comparing with the customary wood biomass cooking system. [9]

Bioplastics are intracellular biopolymers produced by some microorganisms in excess of carbon conditions. Use of methane as a carbon source could mean a decrease in the cost of production of these polymers. [9]

New alternative **bio-products** can be naturally produced by methanotrophs. These products are useful in pharmaceutical, environment and chemistry industry. [9]

7. CONCLUSIONS

Environmentally sustainable development is essential for the proper functioning of life on our planet. Hence, it is our responsibility to reduce the impact that our activities have on the different ecosystems. Innovation is one of the main ways to reduce our environmental footprint to the minimum while keeping our wellbeing. As discussed in this article, the stability of the CO₂ molecule makes its efficient conversion to methane a challenge for today's science. However, we can conclude that despite its difficulty,

investigations on new ways of achieving this goal are quite promising. Optimization of resources is a key piece of sustainable development.

REFERENCES

- [1] Stangeland, K., Kalai, D., & Yu, Z. (2017). CO₂ Methanation: The Effect of Catalysts and Reaction Conditions. *Energy Procedia*, 105, 2022–2027. <https://doi.org/10.1016/J.EGYPRO.2017.03.577>
- [2] Bhattad, U. H. (2012). Preservation of Methanogenic Cultures to Enhance Anaerobic Digestion.
- [3] Widdel, F. (1986). Growth of Methanogenic Bacteria in Pure Culture with 2-Propanol and Other Alcohols as Hydrogen Donors, 51(5), 1056–1062.
- [4] Khelaifia, S., Raouf, D., & Drancourt, M. (2013). A Versatile Medium for Cultivating Methanogenic Archaea, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061563>
- [5] Costa, K. C., & Leigh, J. A. (2014). Metabolic versatility in methanogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 29, 70–75. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2014.02.012>
- [6] de Poorter, L. M. I., Geerts, W. G., Theuvsen, A. P. R., & Keltjens, J. T. (2003). Bioenergetics of the formyl-methanofuran dehydrogenase and heterodisulfide reductase reactions in *Methanothermobacter thermoautotrophicus*. *European Journal of Biochemistry*, 270(1), 66–75. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12492476>
- [7] Fixen, K. R., Zheng, Y., Harris, D. F., Shaw, S., Yang, Z.-Y., Dean, D. R., ... Harwood, C. S. (2016). Light-driven carbon dioxide reduction to methane by nitrogenase in a photosynthetic bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(36), 10163–10167. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611043113>
- [8] Cheng, S., Xing, D., Call, D. F., & Logan, B. E. (2009). Direct Biological Conversion of Electrical Current into Methane by Electromethanogenesis. *Environmental Science & Technology*, 43(10), 3953–3958. <https://doi.org/10.1021/es803531g>
- [9] Cantera, S., Muñoz, R., Lebrero, R., López, J. C., Rodríguez, Y., & García-Encina, P. A. (2018). Technologies for the bioconversion of methane into more valuable products. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.12.021>
- [10] Alberty, R. A. (1994). Thermodynamics of the nitrogenase reactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(10), 7099–102. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8125917>
- [11] Administrator, N. C. (2015). The Sabatier System: Producing Water on the Space Station. Retrieved from https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/news/sabatier.html



Álvaro Feliu Carrizosa, Miriam Campillo Prados, Luis Castillo Cantero and Enrique J. Clavijo Bernal are second year Biotechnology students at University Pablo de Olavide (UPO). This article has been written as a project for the course on Chemical Thermodynamics and Kinetics.

La anafilaxia y la adrenalina

Carmen Serrano Tasset e Isabel Pérez Martínez

Resumen —. La anafilaxia es una enfermedad rápida, sistemática, a menudo imprevista y potencialmente mortal, que ocurre después de la exposición a ciertas sustancias. Los principales factores que la desencadenan son los alimentos, pero no los únicos, ya que también está potenciada por el ejercicio físico, el alcohol o las hormonas. La adrenalina es utilizada como terapia temprana en casos de anafilaxia, debido a sus efectos broncodilatadores, además de los efectos inotrópicos y cronotrópicos cardíacos. Afecta a una gran cantidad de órganos, lo que implica que haya pacientes de riesgo a la hora de administrar este fármaco. Es importante controlar las interacciones que pueden producirse entre la adrenalina y otros compuestos, ya que podrían sucederse efectos adversos.

Palabras clave- anafilaxia, adrenalina, reacción inmunitaria, alérgeno, inmunoglobulina E.



1. INTRODUCCIÓN A LA ANAFILAXIA

La anafilaxia ha sido descrita en numerosas ocasiones en la literatura como una reacción severa que se produce por la liberación de mediadores procedentes de los basófilos y los mastocitos. Afecta a múltiples sistemas y, en casos de ser aguda, puede conllevar la muerte del individuo. Se trata de una reacción inmunitaria rápida y, en la mayoría de ocasiones difícil de anticipar, que se produce debido a la exposición a algunas sustancias.

Las sustancias más destacadas son ciertos alérgenos alimenticios, aunque recientemente se ha descubierto que cofactores que pueden incentivarla. Asimismo, entre los alérgenos se han identificado distintos componentes de la dieta que afectan de forma diferente a la anafilaxia en adultos y en niños, y se ha observado que aquellos que sufren bullying y a menudo sufren reacciones alérgicas acrecientan el riesgo a esta enfermedad, lo cual ha desencadenado un interés en el seguimiento de las dietas de estos niños en las escuelas [1].

Clínicamente, no resulta fácil reconocer los casos de anafilaxia. Los mecanismos que se esconden tras esta impredecible reacción son demasiado complejos e involucran gran número de cascadas señalizadoras [4]. Se trata de mecanismos destinados tanto a incrementar el desarrollo de la enfermedad como a modular la gravedad de la misma, formando una red de interconexión difícil de desvelar. No obstante, entre las estrategias más efectivas desarrolladas para combatirla se pone de manifiesto la adrenalina, una hormona y sustancia neurotransmisora que, de forma natural, mantiene alerta nuestros sentidos en situaciones de peligro pero que, como tratamiento contra la anafilaxia, ha resultado ser un factor de gran potencial [1]. En el desarrollo de la anafilaxia desempeña un papel importante la inmunoglobulina E (IgE) por ser la molécula reconocedora de los alérgenos que pueden desencadenar la reacción. Con respecto al papel de basófilos y mastocitos, contienen un receptor denominado FcεRI, capaz de unirse a la IgE específica y con esta interacción desarrollar todo el proceso que se irá describiendo a continuación [4]. En general, en el proceso de reacción participan la activación del complemento, la formación de complejos inmunitarios, la activación de células T ayudantes y las reacciones dependientes de inmunoglobulina G (IgG). A conti-

nuación, describiremos cómo el tratamiento con adrenalina puede frenar esta extensa cascada de señalización.

2. COFACTORES DE LA ANAFILAXIA

El hecho de reaccionar a algún alérgeno no implica necesariamente anafilaxia. En muchas ocasiones, la enfermedad se ve influida, para bien o para mal, con otros aspectos cotidianos. Entre ellos, el ejercicio físico, la menstruación, infecciones agudas o el alcohol provocan debilidad sobre el mecanismo de alergia tipo I del sistema inmunitario.

2.1 Concentración de estrógenos

Hay estudios que demuestran que las mujeres adultas sufren más casos de anafilaxia que los hombres, pero que antes de la pubertad no hay indicios de que esto sea así, lo que ha permitido deducir que las hormonas sexuales están implicadas en la anafilaxia. La razón es que el estradiol actúa como regulador de la expresión de la sintasa óxido-nitrito endotelial, y en la consecuente producción de NO. La producción de NO es esencial para aumentar la permeabilidad vascular y para el desarrollo de la anafilaxia, desmintiendo la falsa creencia acerca del efecto potenciador de la IgE durante la liberación del estradiol.

2.2 El ejercicio físico

La actividad física induce la anafilaxia en algunos casos (FDEIA; *Food-dependent exercise-induced anaphylaxis*). Se ha estudiado que la activación de la trasglutaminasa (TG) de tejido durante el ejercicio podría crear un complejo de TG-gliadina ω5 capaz de provocar reacciones anafilácticas. La habilidad de la gliadina ω5 para unirse a la IgE se mantiene tras la digestión con tripsina o pepsina y los péptidos digeridos forman complejos de alto peso molecular con la tTG. Además, los complejos tTG-alérgenos hacen que las reacciones mediadas por IgE tengan más probabilidad de ocurrir que sin la presencia del alérgeno. Sin embargo, no hay indicios de que la activación tTG se produzca en respuesta a ejercicio [1,2].

El ejercicio induce la absorción de alérgenos en el intes-

tino pudiendo provocar daño gastrointestinal. Las proteínas son transportadas por la sangre hasta los músculos, aumentando la permeabilidad. Otra hipótesis sugiere que el ejercicio tiene un efecto directo sobre los mastocitos y podría hacer que disminuyera el umbral para el reconocimiento de la IgE en pacientes con WDEIA (*Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis*). El ejercicio físico resulta en el aumento de la osmolaridad del plasma y la variación de ésta activa los mastocitos para liberar mediadores inflamatorios. Se han escrito efectos sinérgicos en la inducción de IgE por la liberación de mastocitos [2].

2.3 Inhibidores de angiotensina y betabloqueantes

Los inhibidores-conversores (ACE) aumentan la anafilaxia. Los mastocitos son dianas directas de estas moléculas inhibitoras y bloqueadoras. Estudios realizados sobre células de ratones demuestran que los receptores de IgE desencadenan la degranulación de los mismos. La interacción entre los bloqueadores y los inhibidores aumentan la liberación de FcepsilonRI [4].

2.4 La concentración alcohólica

En torno al 12% de los casos de anafilaxia son debidos al consumo de alcohol. El mecanismo patogénico no se conoce bien, pero se sabe que induce un cambio en la expresión de proteínas asociadas ZO-1 y Claudina-1, aumentando la permeabilidad de la barrera epitelial en el intestino.

El alcohol aumenta la adenosina extracelular porque impide que ésta sea captada por las células. Curiosamente, tras un periodo de exposición al etanol, las células se llegan a hacer tolerantes a los efectos de éste en el transporte de adenosina, y la adenosina vuelve a captarse. Una cantidad elevada de adenosina en sangre potencia los efectos del alcohol sobre la enfermedad, aunque por sí solo este no esté involucrado en la anafilaxia [4].

3. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS

3.1 Omalizumab

Se trata de un anticuerpo monoclonal muy demandado en el tratamiento contra la anafilaxia, sobre todo idiopática, donde el factor desencadenante de la enfermedad no está muy especificado en los pacientes. Estabiliza las células mastocitos y reduce los síntomas de EIA (anafilaxia inducida por el ejercicio físico), no obstante, es capaz de aliviar a nivel general todos los síntomas generados: urticaria, náuseas, diarrea, angioedemas y dificultad respiratoria, entre otros. Es por ello que se ha puesto empeño en proseguir los estudios acerca de este anticuerpo [3].

3.2 Antihistamínicos

La histamina tiene un papel muy importante en la fisiopatología de la anafilaxia. Cuando se expone a un alérgeno, los niveles de histamina aumentan mucho más que los de otros moduladores de la inmunidad y los efectos son mediados por varios receptores de la histamina [3].

RECEPTOR	PRINCIPAL FUNCIÓN
H1	Vasoconstricción coronaria y constricción bronquial
H2	Vasodilatación sistemática y secreción de ácido gástrico.
H3	Neurotransmisión
H4	Activación de las células inmunitarias.

Tabla 1. Resumen de los receptores y su respectiva función, identificados en el mecanismo de regulación de los efectos de la histamina [3].

Ambos, el receptor H1 y H2 regulan la hipotensión, taquicardia, y dolor de cabeza. El receptor H3 modula la congestión nasal. La efectividad de los antihistamínicos es muy limitada porque se absorben muy lentamente y tardan mucho tiempo en hacer efecto. La concentración máxima en el plasma de antihistamínicos dirigidos al receptor H1 tarda en alcanzarse una media de tres horas o más tras su administración.

4. ADRENALINA

La adrenalina es el tratamiento inicial suministrado en casos de anafilaxia debido a sus efectos en los órganos diana. Es un potente agonista adrenérgico no selectivo de los receptores α_1 , α_2 , β_1 y β_2 en todo el cuerpo, aunque el grado de estimulación va a depender de la concentración de adrenalina en los receptores, proporcional a la dosis suministrada.

La estimulación de los receptores α implica un incremento de la resistencia vascular, que conduce a un aumento de la presión sanguínea y perfusión coronaria. La estimulación de los receptores α_1 conlleva la vasoconstricción arteriolar, mientras que la estimulación de los receptores α_2 inhibe la liberación de noradrenalina debido a una retroalimentación negativa, así como la vasoconstricción arteriolar de nuevo. La estimulación de estos receptores disminuye las secreciones de la mucosa bronquial, atenuando el desarrollo de edemas [5].

Cuando la adrenalina estimula los receptores β_1 , se induce una respuesta cronotrópica positiva y un efecto inotrópico positivo, mientras que la estimulación de los receptores β_2 conduce a la vasodilatación arteriolar, la relajación del músculo liso bronquial y la glucogenólisis. Además, hay un aumento de la contractibilidad cardíaca y del ritmo cardíaco. La estimulación de los receptores β_2 previene la secreción de histamina y otros componentes de los mastocitos, de forma que se revierte la broncoconstricción. La presión arterial sistólica se eleva como resultado de la inotropía aumentada, a pesar de que la presión arterial diastólica se reduce debido a la vasodilatación inducida por la adrenalina.

Una vez que la adrenalina se ha unido a los receptores adrenérgicos, se van a modificar las acciones intracelulares mediadas por AMPc (adenosín monofosfato cíclico). La producción de este segundo mensajero se ve incrementada en mastocitos y basófilos cuando se estimulan los

receptores β , reduciéndose la secreción de mediadores que provocan la anafilaxia [4].

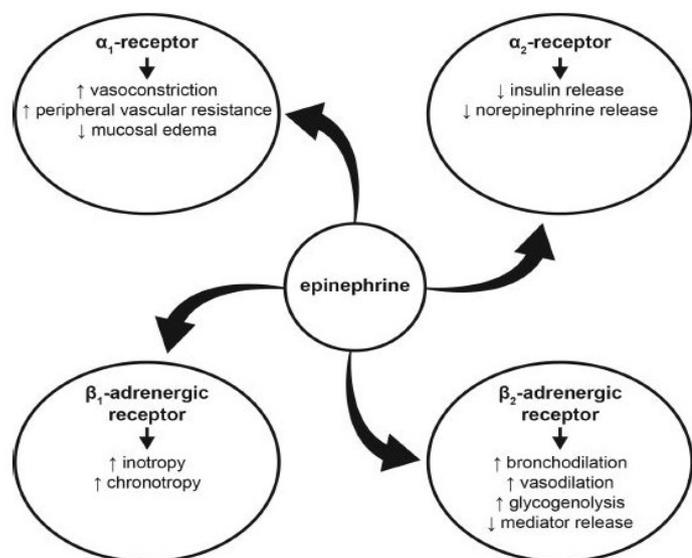


Figura 1. Efectos de la adrenalina sobre los receptores adrenérgicos [4].

4.1 Administración y efectos de la adrenalina

Los principales efectos terapéuticos de la adrenalina incluyen la relajación del músculo liso bronquial, la estimulación cardíaca, la vasodilatación en el músculo esquelético y la estimulación de mecanismos calorigénicos, además del aumento de suministro de oxígeno miocárdico y la demanda de oxígeno.

La adrenalina se administra principalmente por inyección intramuscular en el muslo, debido a su rápida absorción. También se puede administrar vía tópica o por inhalación, pero la velocidad de reacción es mucho menor. La duración de la acción es de 1-4 horas.

La mayoría de los efectos secundarios asociados a la adrenalina están asociados a una sobredosis o a una administración intravenosa. El retraso en su administración conlleva un mayor riesgo de encefalopatías hipóxico-isquémicas y la muerte. El fármaco se metaboliza por las enzimas catecol-O-metiltransferasa y monoamina-oxidasa en el hígado. Allí, los metabolitos son conjugados con sulfatos o glucurónidos y se excretan vía renal.

La adrenalina está absolutamente contraindicada para causas distintas a un shock anafiláctico. Los efectos cardiovasculares de la adrenalina son perjudiciales en condiciones de choque hemorrágico, enfermedad orgánica grave, arritmias cardíacas, arteriosclerosis cerebral o síndrome cerebral orgánico.

Uno de los problemas de la adrenalina es que puede causar necrosis de los tejidos, por lo que nunca debe inyectarse en extremidades, ya que puede causar necrosis tisular grave debido a la vasoconstricción de los vasos sanguíneos pequeños.

La adrenalina puede retrasar etapas del parto, además de atravesar la placenta y afectar al feto. Sin embargo, no atraviesa en gran medida la barrera hematoencefálica. Se puede distribuir en la leche materna. Por esta razón, las embarazadas son un grupo de riesgo a la hora de la administración de la adrenalina.

Asimismo, está contraindicada en pacientes con hipertensión, hipertiroidismo o diabetes mellitus, ya que puede causar hiperglucemia debido a una glucogenólisis aumentada en el hígado, una disminución de la captación tisular de glucosa y disminución de la liberación de insulina por el páncreas [1].

5. INTERACCIONES DE LA ADRENALINA

La adrenalina y los betabloqueantes interactúan entre ellos, de manera que los betabloqueantes pueden antagonizar los efectos estimulantes de la adrenalina sobre los sistemas cardiovascular y pulmonar. Los betabloqueantes inhiben el efecto inotrópico positivo y los efectos cronotrópicos de la epinefrina, además de oponerse a la vasodilatación inducida por receptores beta2, exagerando la vasoconstricción inducida por la epinefrina y los receptores alfa1. Además, ejercen acciones opuestas sobre la regulación de la glucemia. Por esta razón, aquellos pacientes con tratamientos de betabloqueantes son un grupo de riesgo muy importante [6].

5.1 Efectos de la adrenalina

Los efectos farmacológicos de la epinefrina incluyen palidez transitoria, temblor, ansiedad y palpaciones.

La administración de adrenalina puede provocar estimulación generalizada del SNC, que se manifiesta como insomnio, dolor de cabeza y desorientación. Además, las respuestas musculares adrenérgicas moduladas por la epinefrina pueden producir náuseas, sudoración o palidez. También pueden producirse isquemias como resultado de las demandas de oxígeno del corazón adrenérgicamente estimulado.

Los errores de medicación relacionados con adrenalina pueden ser fatales, por lo que se debe tener cuidado con la preparación del fármaco, la concentración, la dosis y la vía de administración [7].

6. CONCLUSIÓN

Pese a los efectos de la adrenalina, en su mayoría sintomáticos, hoy en día todavía se la considera el fármaco de mayor potencial en la lucha contra la anafilaxia. Esto se debe a la complejidad, tanto por la intervención de moléculas cofactora, como de las interacciones intracelulares que se han descrito previamente. No obstante, el empeño en mejorar la calidad de vida de estos pacientes y, sobre todo, los avances tecnológicos e inmunológicos, está haciendo posible el progreso hacia tratamientos alternativos y abriendo puertas antes desconocidas.

REFERENCIAS

[1] Jude T. Fleming, MD^a, Sunday Clark, MPH, ScD, Carlos A. Camargo, Jr, MD, DrPH, and Susan A. Rudders, MD, "Early treatment of Food-Induced Anaphylaxis with Epinephrine is Associated with a Lower Risk of Hospitalization", Providence, RI, New York, and Boston Mass, 2014.

[2] Mark R. Pterson, D.O., and Christopher A. Coop, M.D. "Long-term omalizumab use in the treatment of exercise-induced anaphylaxis", *allergy Rhinol*, e172, 2017.

[W. D. Jayamali, H. M. M. T. B. Herath and Aruna Kulathunga, "Myocardial infarction during anaphylaxis in a young healthy male with normal coronary arteries-is epinephrine the culprit?", *BMP Cardiovascular Disorders*, 2017.

[4] Stanley M. Fineman, MD, "Optimal treatment of Anaphylaxis: Antihistamines Versus Epinephrine", Adjunct Associate Professor, Department of Pediatrics, Emory University School of Medicine, Atlanta Allergy and Asthma Clinic, Agosto 2014.

[5] Muñoz-Cano R., Picado C., Valero A., Bartra J., "Mechanisms of Anaphylaxis Beyond IgE". Unitat d'Al·lergia, Servei de Pneumologia, Hospital Clinic, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.

[6] <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/e011.htm>

[7] Scott H. Sicherer, F. Estelle R. Simons, "Epinephrine for First-aid Management of Anaphylaxis", SECTION ON ALLERGY AND IMMUNOLOGY. American Academy of Pediatrics, 2017.



Isabel Pérez Martínez y Carmen Serrano Tasset son dos alumnas del último curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide. Actualmente, compaginan sus estudios en la Universidad con prácticas

en calidad de alumno interno en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD).

Modulación de la respuesta inmune tras isquemia/reperfusión: inyección de células apoptóticas

Patricia de la Cruz Ojeda

Resumen— El corazón es un órgano de vital importancia para un organismo. Cuando se produce isquemia/reperfusión se desencadenan mecanismos de muerte celular que disminuyen el recuento de células contráctiles y que disparan la inflamación. Así pues, la funcionalidad del tejido se ve afectada. No obstante, la apoptosis presenta una serie de propiedades inmunomoduladoras que reducen la respuesta inflamatoria que tiene lugar después de un infarto. La inyección de células apoptóticas en el tejido infartado se presenta como terapia para reducir estos problemas y mejorar la progresión de los pacientes.

Palabras Claves— Isquemia, apoptosis, necrosis, inflamación, remodelación.

1. INTRODUCCIÓN

El infarto agudo de miocardio (AMI, del inglés) constituye la primera causa de muerte en Estados Unidos y en la mayoría de los países desarrollados. La probabilidad de sufrir AMI se incrementa con la edad del paciente y está directamente relacionada con factores de riesgo como la presencia de enfermedades coronarias, hipercolesterolemia, diabetes, y el estilo de vida, así como con el historial familiar de enfermedades relacionadas con el sistema circulatorio [1].

La causa más directa del infarto de miocardio es la isquemia en el tejido, definiéndose esta como la disminución del suministro de oxígeno y de nutrientes al miocardio, como consecuencia del bloqueo de la arteria coronaria que los provee [1,2]. Por tanto, cuando aparece esta patología es de vital importancia restaurar el flujo de sangre hacia el miocardio, lo que se consigue mediante cirugía o bien mediante reperfusión con fármacos de tipo antitrombótico [1].

La homeostasis del miocardio depende de las tasas de renovación y muerte de cardiomiocitos. Cuando se produce la isquemia, el recuento de este tipo de células disminuye por mecanismos de apoptosis, necrosis y autofagia³. Y a pesar de que la reperfusión es un tratamiento necesario para restaurar el buen funcionamiento del sistema circulatorio, ha de ser concebida como un arma de doble filo porque dispara estos procesos [2].

A lo largo de este artículo se revisarán cómo afectan los dos mecanismos principales de muerte celular a la respuesta inmune que tiene lugar tras AMI. Serán las propiedades inmunomoduladoras de la apoptosis las que nos proporcionarán la clave para desarrollar terapias dirigidas a minimizar esta respuesta.

2. MUERTE CELULAR TRAS ISQUEMIA/REPERFUSIÓN

El principal mecanismo de muerte celular en esta patología es la necrosis, aunque la apoptosis también juega un papel importante [3]. Precisamente la llegada masiva de nutrientes y oxígeno tras la reperfusión incrementa la presencia de ROS en el tejido y desencadena los mecanismos de muerte celular [2].

En términos generales, la necrosis es un proceso rápido de muerte celular en el que está implicada la apertura del poro de transición mitocondrial como respuesta a calcio y la consiguiente rotura de la membrana, en la que se dispersan los componentes celulares por la matriz. Por otro lado, la apoptosis es un tipo de muerte más fisiológico y lento, que implica la activación secuencial de enzimas proteolíticas como las caspasas. A pesar de que ambos tienen el mismo final para la célula, es la necrosis la que causa más daño al tejido puesto que dispara los mecanismos de inflamación [4].

3. RESPUESTA INFLAMATORIA TRAS LA MUERTE CELULAR

Tras la muerte por necrosis se liberan los componentes celulares, lo que conlleva la activación del sistema del complemento; la activación de receptores TLR4, mediada por señales de daño celular (DAMP) liberadas por células necróticas y la matriz; la activación de IL-1, debido a la producción de ROS y, por último, la iniciación de las respuestas angiogénica y fibrogénica mediada por vía humoral [5]. Es decir, se activa una compleja red de señales que desencadenan la respuesta inflamatoria.

En particular, la activación de TLR/IL-1 promueve respuestas pro-inflamatorias en células endoteliales y fibroblastos. Por ejemplo, las quimioquinas (sustancias que atraen a células) producidas por las células endoteliales dan lugar a un gradiente quimiotáctico que atrae a neu-

trófilos y monocitos. Las primeras células en infiltrarse serán los neutrófilos (infiltración mediada por moléculas de adhesión) y, posteriormente, lo harán los monocitos, que se diferenciarán a macrófagos gracias a la elevada producción de un factor de diferenciación como el M-CSF en el tejido [5].

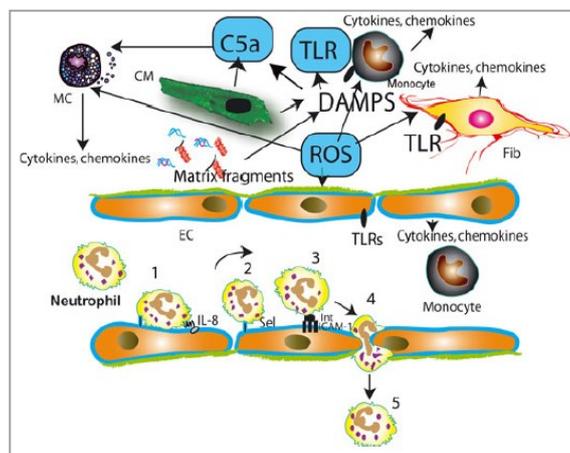


Figura 1. Iniciación de la respuesta inflamatoria en el corazón tras AMI. En esta respuesta participan varios tipos celulares: cardiomiocitos, fibroblastos, mastocitos, células endoteliales y células del sistema inmune. Las funciones principales de estas células convergen en la producción de quemoquinas, citoquinas y/o en la limpieza del tejido de restos celulares [5].

La apoptosis, al contrario que la necrosis, es un proceso de muerte celular fisiológico que permite la eliminación de células no deseadas sin desencadenar la respuesta inflamatoria. Esto se debe, principalmente, a que las células apoptóticas son eliminadas por fagocitos, lo que previene la necrosis secundaria de la célula. La efectividad de la fagocitosis está regulada por la expresión de señales de "eat me" (calreticulina, PS) y de "find me" (quimioquinas), la represión de señales de "don't eat me", y señales de "keep out" que previenen la migración de neutrófilos [6].

Las células apoptóticas tienen propiedades inmunosupresoras directas e indirectas. Las primeras se basan en la secreción de citoquinas tipo IL-10 o TGF- β y las segundas en el ambiente inmunomodulador que crean los fagocitos. Cabe destacar que las propiedades inmunomoduladoras de la apoptosis afectan también al sistema inmune adaptativo, puesto que se activa la producción de células B y T reguladoras [6].

4. INYECCIÓN DE CÉLULAS APOPTÓTICAS COMO TRATAMIENTO ANTI-INFLAMACIÓN

La patogénesis del infarto de miocardio está directamente relacionada con la remodelación que tiene lugar tras necrosis y que culmina con la formación de cicatrices por fibrosis, lo que hace que el ventrículo no sea totalmente funcional.

Teniendo en cuenta los mecanismos de acción mencionados, la inyección de células apoptóticas tras AMI prevendría la remodelación del tejido infartado, gracias a las propiedades inmunomoduladoras de este tipo de muerte celular respecto a necrosis, y a su papel pro-angiogénico.

Concretamente, la inyección de células mononucleares apoptóticas de sangre periférica (PMBC) en ratones reduce la cantidad de células necróticas, aumenta la presencia de macrófagos, disminuye el tamaño de la cicatriz y altera su composición, incrementado la proporción de elastina. Todo ello favorece la disminución del tamaño de la zona infartada, así como la fibrosis y disminuye la respuesta inflamatoria. Por tanto, tratamientos de este tipo hacen posible una mejor recuperación tras el infarto y el buen funcionamiento posterior de los ventrículos [7].

5. CONCLUSIONES

El infarto agudo de miocardio representa un claro ejemplo de la complejidad que supone compatibilizar el buen funcionamiento del sistema inmune con la homeostasis de un tejido. A pesar de que algunos componentes de este sistema son fundamentales para eliminar células dañadas, la extensión de su actuación ha de verse limitada para evitar la respuesta inflamatoria, puesto que esta acentúa los daños producidos por la propia patología. Es inevitable que mueran cardiomiocitos durante el infarto pero es de vital importancia limitar la extensión de la muerte celular para prevenir un daño exacerbado al tejido.

Es por ello por lo que la regulación de la respuesta inmune tras AMI con células apoptóticas es una terapia prometedora, puesto que podría mejorar la progresión de los pacientes. Sería necesario, por tanto, avanzar las investigaciones en este campo y fomentar el uso de células humanas *in vitro* para esta tarea, ya que la mayoría de los estudios se han realizado en roedores.

REFERENCIAS.

- [1] H. Michael Bolooki, Arman Askari. Acute myocardial infarction. *The Cleveland Clinic Foundation*.
- [2] Fabrice Ivanès. New mechanisms of protection of cardiomyocytes from ischemia / reperfusion injury. *Tissues and Organs*. Université Claude Bernard, Lyon, 2013.
- [3] Amabel M. Orogo and Åsa B. Gustafsson. Cell Death in the Myocardium: My Heart Won't Go On. *IUBMB Life*. 2013 August ; 65(8): 651-656
- [4] Catherine Gill, Ruben Eestril, Afshin Samali. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease—a novel therapeutic target? *FASEB J*. 16, 135-146 (2002)
- [5] Panagiota Christia and Nikolaos G. Frangogiannis. Targeting inflammatory pathways in myocardial infarction. *European Journal of Clinical Investigation*. Vol 43 (9): 986-995
- [6] Sylvain Perruche and Philippe Saas. Immunomodulatory properties of apoptotic cells
- [7] Michael Lichtenauer, Michael Mildner, Andrea Baumgartner, Matthias Hasun, Gregor Werba, Lucian Beer, Patrick Altmann, Georg Roth, Mariann Gyöngyösi, Bruno Karl Podesser, Hendrik Jan Ankersmit. Intravenous and intramyocardial injection of apoptotic white blood cell suspensions prevents ventricular remodeling by increasing elastin expression in cardiac scar tissue after myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* (2011) 106: 645-655.

Alzheimer. Antecedentes y Terapias novedosas

Miguel Ángel González Pérez, Manuel Munuera Cabeza, Guillermo Sánchez-Garrido Campos

Resumen— El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por deterioros a nivel neurológico, muy presente en la sociedad actual y se ha intentado combatir con varios fármacos a lo largo de la historia mediante dos vías terapéuticas, siendo solo una de ellas la que más éxito ha cosachado, aunque la otra alternativa parece haber hallado la clave. De entre todos los tratamientos existentes, se mostrarán el fármaco Aducanumab y la terapia con Nanorods de oro, dos de las terapias más prometedoras. ¿Será suficiente como para alcanzar un tratamiento más efectivo contra el Alzheimer o habrá que seguir investigando otras posibles opciones?

Palabras Claves— Alzheimer, Placa beta-amiloide, Proteína TAU, Aducanumab, Microglía, Nanorods oro, Péptido D1, Angiopep 2, AADvac1.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer es afección neurodegenerativa basada en un deterioro cognitivo acompañado de cambios en la conducta normal del paciente. A medida que la enfermedad avanza, las células nerviosas mueren y las diferentes áreas del cerebro afectadas se atrofian, causa de pérdidas de memoria y de varias capacidades mentales en el paciente. Hoy en día es una enfermedad incurable y terminal, apareciendo con mayor frecuencia en sujetos mayores de 65 años. Para tratar esta afección surgieron dos hipótesis que dirigen sus fármacos contra dianas bien distintas:

A. HIPÓTESIS DE LAS PROTEÍNAS BETA-AMILOIDE Y TAU

Dirigida a contrarrestar la acumulación de las proteínas TAU y beta-amiloide en diversas áreas cerebrales, con la consiguiente formación de las placas beta-amiloide. [1,2]

En este proceso intervienen los genes PSEN1 y PSEN2, que codifican enzimas que actuarán sobre la proteína APP (proteína precursora amiloide), fragmentándola en las llamadas fibras beta-amiloide, las cuales se agrupan y forman las placas ya mencionadas. Por otro lado actúa las proteínas TAU, las cuales, en pacientes de Alzheimer, se hiperfosforilan y se agrupan en ovillos que degradan los microtúbulos, destruyendo así el sistema de transporte en la neurona. Estos dos eventos consecuten en la apoptosis de las células afectadas. [3]

B. HIPÓTESIS COLINÉRGICA

Centrada en paliar las variaciones causadas por la acumulación de las placas beta-amiloide, en lugar de atacar a las placas directamente. Entre los cambios que pretende confrontar encontramos: [4]

- La mayor producción de prostaglandinas.
- El aumento de la concentración extracelular de glutamato, favoreciendo la muerte neuronal.
- La disminución de la actividad de las células colinérgicas, implicando un número menor de sinapsis.
- La inferior actividad de la enzima colina acetiltrans-

ferasa, lo cual conlleva a la pérdida del neurotransmisor acetilcolina, esencial para que transcurran las sinapsis colinérgicas.

2. ANTECEDENTES. PRIMEROS FÁRMACOS

A lo largo de la historia reciente han surgido varios fármacos, muchos de ellos con efectos paliativos sobre los síntomas de la enfermedad. Lo curioso radica en que la mayoría de ellos se han centrado en la segunda hipótesis mencionada, la hipótesis colinérgica, mientras que los intentos de generar fármacos que atacasen directamente las placas beta-amiloide han sido un fracaso, debido principalmente a la incapacidad de los mismos para unirse a dichas placas. No obstante, esta desazón puede ser revertida gracias a un nuevo fármaco en fase de desarrollo, capaz de actuar sobre las placas beta-amiloide y cuyos resultados son realmente esperanzadores, se tratará sobre el mismo en el siguiente apartado.

Antes se mostrará, de manera resumida, algunos de los fármacos de la hipótesis colinérgica, agrupándolos según su rol y hablando acerca de su efectividad:

2.1. Tacrina, Donepezilo, Rivastigmina, Galantamina

Todos ellos son fármacos anticolinesterásicos que actúan como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa. De este modo se ve disminuida la degradación de acetilcolina y se potencia a las neuronas restantes e intactas. Son los fármacos que más éxito comercial han tenido, aunque la tacrina fue retirada del mercado a causa de sus perjudiciales efectos secundarios. [5] El resto de fármacos mostraron, en varios estudios [6,7], que mejoraban la función cognitiva y favorecían la realización de actividades de vida cotidiana por parte de los pacientes.

2.2. Memantina

Actúa sobre el sistema glutamatérgico, bloqueando los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) del glutamato, un neurotransmisor excitador. Cuando el glutamato se une a sus receptores, se activan los canales de Ca^{2+} y éste entra en la célula a grandes concentraciones.

Este hecho provoca la turgencia de la célula y la liberación de su contenido al medio extracelular, el glutamato, ahora libre, puede volver a actuar sobre otras neuronas repitiéndose el proceso. [8,9] Ante este fenómeno era lógico buscar algún remedio que disminuyese la entrada indiscriminada de glutamato en la célula.

Un estudio [10] con la Memantina mostró que, al igual que los vistos anteriormente, era útil en la lucha contra el Alzheimer, pues los pacientes que lo tomaban presentaban un menor deterioro que lo pacientes control.

2.3. Estudio conjunto con Donepezilo y Memantina

Por último, merece una mención un estudio en el que se observa el efecto conjunto de dos fármacos, cada uno perteneciente a un subgrupo de los recogidos dentro de la hipótesis colinérgica. Dado que ambos fármacos tenían efectos beneficiosos cada uno en su sistema de trabajo, era inevitable preguntarse si con un tratamiento conjunto se obtendría una sinergia. Este estudio [11], en el que se comparaban tanto con pacientes control como con pacientes a los que se les administró únicamente Memantina, demostró que el tratamiento conjunto mejoraba los resultados de cada fármaco administrado individualmente.

3. TERAPIAS NOVEDOSAS

En este apartado se mostrarán tres terapias prometedoras que aún no han salido al mercado para combatir la enfermedad de Alzheimer. Como se observará, cada una ejerce su acción en ámbitos diferentes, lo cual, tras llevar a cabo la investigación, nos surgió la idea de si sería posible un tratamiento conjunto de algunas de ellas. Sin embargo, lo primero y más importante es recabar datos y resultados de cada una de ellas en ensayos preclínicos y clínicos para determinar su seguridad y eficacia:

3.1. Aducanumab

El aducanumab es un anticuerpo monoclonal humano que se une selectivamente a los agregados de proteína beta-amiloide (placas beta-amiloide) y favorece su disgregación.

Para demostrar su efectividad sobre las placas beta-amiloide se llevó a cabo un estudio [12] doble-ciego sobre pacientes con la enfermedad de Alzheimer en sus estadios temprano y medio, los cuales recibían o bien un placebo o bien aducanumab en distintas concentraciones. Mediante la técnica de Tomografía de Emisión de Positrones (PET) se obtuvieron imágenes con las que se puede contemplar la evolución de las mencionadas placas a lo largo del tratamiento, como se puede observar en la imagen 1.

Visto el efecto del fármaco sobre su diana y qué concentración es más eficaz, es necesario averiguar qué efectos adversos provoca. En este mismo estudio [12] se observaron los siguientes: dolores de cabeza, infecciones en el tracto urinario y respiratorio. Sin embargo, éstos no aparecían en todos los grupos, al contrario que ciertas anomalías encontradas en las imágenes relacionadas con las placas amiloide, conocido como ARIA (*Amiloid-Related Imaging Abnormalities*), un tipo de edema que hace

augmentar la cantidad de fluido extracelular en el tejido cerebral, que sí estuvo presente en todos los grupos, aunque ningún paciente tuvo que ser hospitalizado.

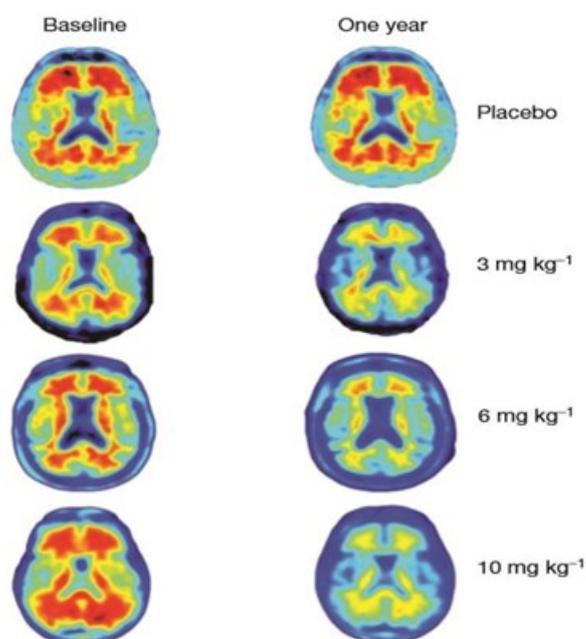


Imagen 1. Imágenes obtenidas con la técnica de Tomografía de Emisión de Positrones (PET) que muestra una comparación de la cantidad de placas beta-amiloide entre pacientes tratados con placebo y distintas concentraciones de aducanumab, al inicio del tratamiento y en la semana 54 tras el comienzo. Es notable la desaparición de dichas placas en los pacientes que recibieron el fármaco. [12]

Una vez mostrado el efecto positivo del fármaco sobre los pacientes, es necesario contestar a la pregunta: ¿cómo funciona este fármaco? ¿Es él mismo el que disgrega a las placas beta-amiloide? ¿Acaso sirve de reclutador para otras sustancias o células que son las que verdaderamente actúan? ¿O ambos eventos al mismo tiempo?

Para ello se recurre en este informe a un estudio previo al mostrado en humanos, un tratamiento preclínico realizado sobre ratones [12], donde se pudo observar que el aducanumab se unía en el cerebro del roedor por igual a placas difusas como a compactas, como se observa en la imagen 2:

En cuanto a su rol, según parece, el aducanumab, una vez unido a las placas, recluta a las microglías. Se sabe que estas células poseen una función fagocítica cuando se unen a la región Fc de un anticuerpo, en este caso el aducanumab, el análogo murino del aducanumab. Pues como se puede contemplar en la imagen 3, son las microglías las que actúan sobre la placa y consecutivamente en su disgregación, aunque aún no se confirma con total seguridad. [13]

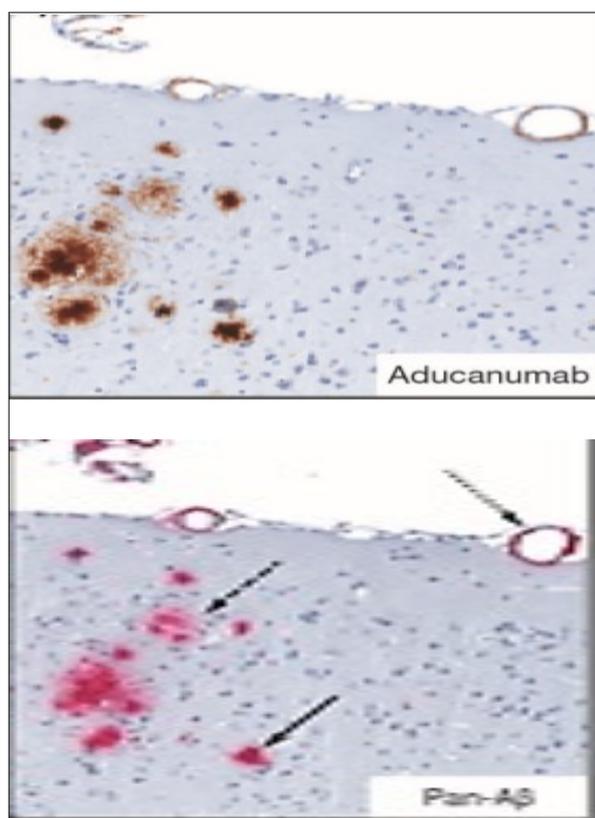


Imagen 2. (Arriba) Marcaje sobre aducanumab y su zona de acción en el tejido cerebral, (abajo) marcaje, con un anticuerpo dirigido contra las proteínas beta-amiloide, de las placas homónimas. Se puede observar que el aducanumab se une tanto a las placas compactas (aquella señalada con la flecha lisa), difusas (señalada con la flecha discontinua) y sobre zonas que han sufrido angiopatías amiloides, lesiones asociadas con la deposición de las proteínas beta-amiloide en los vasos del SNC (señalado con la flecha punteada). [12]

Aunque parece ser que el aducanumab podría dar con la clave para luchar contra el Alzheimer, aún hay mucho trabajo por hacer, multitud de ensayos para verificar que sus efectos secundarios no sean lo suficientemente perjudiciales como para ser desechado, sobretodo el problema del ARIA antes comentado; observar si la eliminación de las placas se mantiene a corto o largo plazo para establecer las correctas dosis, o por ejemplo, observar si su tratamiento conjunto con otro de los fármacos vistos con anterioridad muestra mejores resultados, cada uno luchando contra la enfermedad en su campo de acción.

3.2. Nanorods de oro

A continuación hablaremos acerca del empleo de materiales nanométricos como terapia contra el Alzheimer, cuyas propiedades hacen de la nanotecnología una plataforma prometedora para abordar los problemas de la medicina contemporánea. En este apartado no hablamos de fármacos para tratar directamente la enfermedad, como en el caso del Aducanumab, sino que se trata de una terapia alternativa de administración de fármacos.

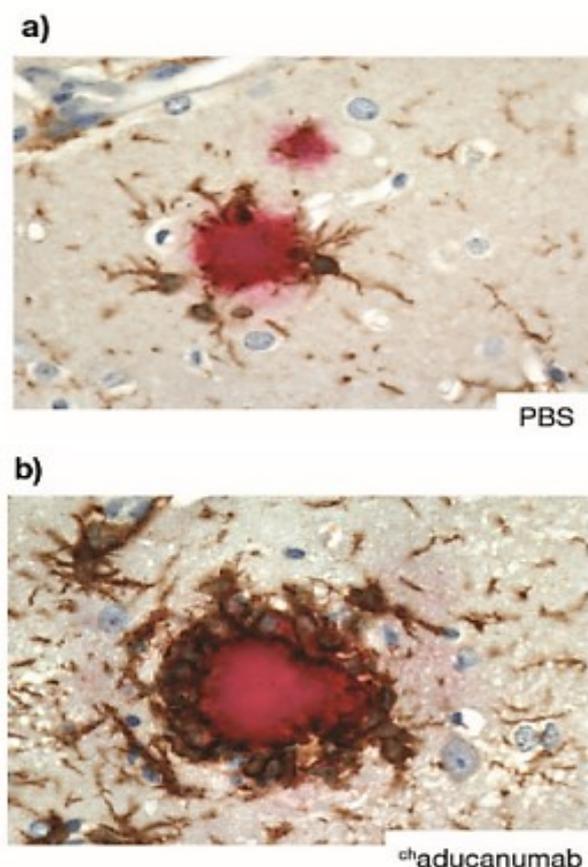


Imagen 3. Comparación entre a) Tejido cerebral de ratón tratado con un placebo y b) tejido cerebral de ratón tratado con aducanumab. El marcaje roja muestra la placa beta-amiloide y el marcaje marrón muestra a las microglías. Se puede contemplar cómo en los ratones tratados con aducanumab, el reclutamiento de estas células es mucho más notable. [12]

Los nanorods de oro son sintetizados y estabilizados con glicoles de polietileno y modificados con dos tipos de péptidos: el péptido D1, que reconoce agregados tóxicos A-péptido β , los péptidos que forman la placa beta-amiloide; y la Angiopep 2 que pueden ser utilizada para entregar nanorods al sistema nervioso central de los mamíferos. Los nanoconjugados se caracterizaron utilizando espectrofotometría de absorción, dispersión de luz dinámica, y electrónica de transmisión microscopía, entre otras técnicas. Se determinó que el nanoconjugado no afecta a la viabilidad neuronal; penetra en las células y disminuye la agregación del péptido A β in vitro. Cuando se aplica a una *Caenorhabditis elegans* con síntomas de la enfermedad de Alzheimer, se observa que la toxicidad de A agregada al péptido beta se reduce (Imagen 4).

Las nanopartículas de oro (PNB) son los nanomateriales que pueden ser utilizados en la medicina porque tienen un plasmón de superficie localizada (LSP) [14]. Los nanorods oro (BGN) tienen la banda LSP en la región infrarroja, también llamada la ventana biológica [15], que es especialmente relevante para los sistemas biológicos. Este atributo los hace buenos candidatos para el desarrollo de

terapias de hipertermia y administración de fármacos. Su síntesis fácil y efecto fototérmico se puede utilizar para liberar su carga a una distancia determinada [15,16]. Además, las PNB se pueden funcionalizar de manera muy versátil con tioles, ditiolos, aminas, carboxilatos y anticuerpos para llegar a diferentes objetivos selectivos. Se ha descrito que nanoesferas de oro desnudas (GNSS) afectan a la agregación de A-péptido beta, en particular cuando están cargados negativamente [17]. Se ha estudiado el uso de BGN y GNSS funcionalizados con el péptido CLPFFD (GNSSCLPFFD / BGN-CLPFFD) en el desmontaje de los agregados de A-péptido β in vitro y también en el reducción de su toxicidad [15,18,19]. Sin embargo, también se ha demostrado que sólo un pequeño porcentaje de las nanopartículas inyectadas llegan al cerebro de rata [16]. La baja biodisponibilidad de las nanopartículas en el sistema nervioso central (SNC) es debida principalmente a la presencia de la barrera hematoencefálica altamente impermeable. Además, el contacto de los PNB con proteínas plasmáticas promueven su captura por el sistema reticuloendotelial (RES) y conduce a su acumulación en el hígado y el bazo, lo cual contribuye a la reducción de su disponibilidad en el SNC.

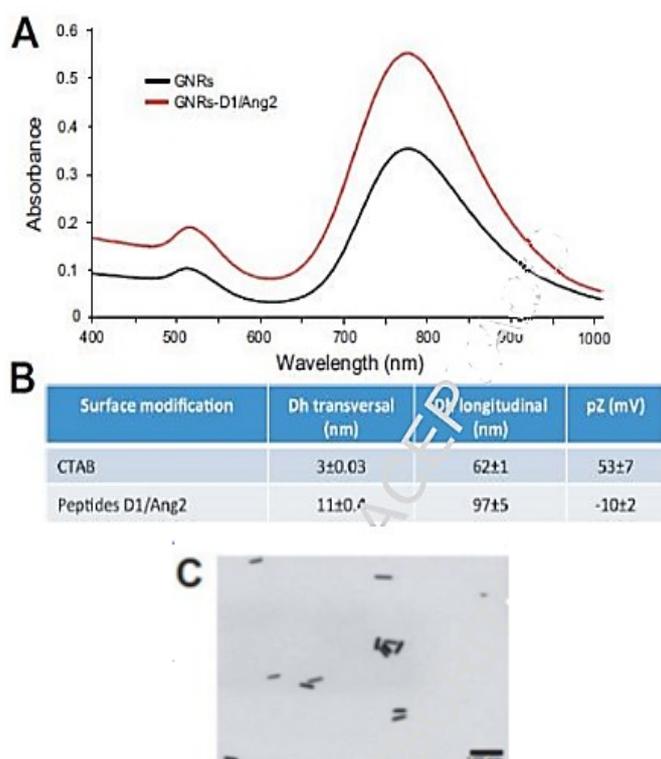


Imagen 4. (A) Espectro del UV-visible del BGN donde se emide la absorbancia de la muestra, relacionada con la agregación de la placa beta-amiloide, la posición más baja de la línea negra (tratamiento con los nanorods) indica una menor agregación de de la placa beta-amiloide. (B) Distribución del tamaño de BGN obtenido por dispersión de luz dinámica. (C) Microscopía electrónica de barrido de BGN donde se puede observar una menor agregación de los péptidos beta-amiloide tras el tratamiento con los nanorods. [15]

Las nanopartículas de oro (PNB) son los nanomateriales que pueden ser utilizados en la medicina porque tie-

nen un plasmón de superficie localizada (LSP) [14]. Los nanorods oro (BGN) tienen la banda LSP en la región infrarroja, también llamada la ventana biológica [15], que es especialmente relevante para los sistemas biológicos. Este atributo los hace buenos candidatos para el desarrollo de terapias de hipertermia y administración de fármacos. Su síntesis fácil y efecto fototérmico se puede utilizar para liberar su carga a una distancia determinada [15,16]. Además, las PNB se pueden funcionalizar de manera muy versátil con tioles, ditiolos, aminas, carboxilatos y anticuerpos para llegar a diferentes objetivos selectivos. Se ha descrito que nanoesferas de oro desnudas (GNSS) afectan a la agregación de A-péptido beta, en particular cuando están cargados negativamente [17]. Se ha estudiado el uso de BGN y GNSS funcionalizados con el péptido CLPFFD (GNSSCLPFFD / BGN-CLPFFD) en el desmontaje de los agregados de A-péptido β in vitro y también en el reducción de su toxicidad [15,18,19]. Sin embargo, también se ha demostrado que sólo un pequeño porcentaje de las nanopartículas inyectadas llegan al cerebro de rata [16]. La baja biodisponibilidad de las nanopartículas en el sistema nervioso central (SNC) es debida principalmente a la presencia de la barrera hematoencefálica altamente impermeable. Además, el contacto de los PNB con proteínas plasmáticas promueven su captura por el sistema reticuloendotelial (RES) y conduce a su acumulación en el hígado y el bazo, lo cual contribuye a la reducción de su disponibilidad en el SNC.

La baja biodisponibilidad de nanoconjugados en el cerebro ha hecho muy difícil de evaluar su eficacia en la enfermedad de Alzheimer. Una estrategia para reducir las PNB es el uso de polímeros biocompatibles, tales como polietilenglicol (PEG), que es hidrófilo y reduce la interacción con las proteínas plasmáticas. Además, el revestimiento de PEG cambia la carga superficial de las PNB, disminuyendo el potencial Z (pZ) a niveles casi neutros, que también reduce la toxicidad y aumenta la estabilidad coloidal debido a efectos estéricos [19].

Se ha diseñado un nuevo nanoconjugado usando BGN funcionalizados con dos tipos de péptidos con el fin de funcionar como un dispositivo de administración de fármacos para los péptidos terapéuticos. Se utilizaron los péptidos Angiopep 2 (Ang2) y D1. Ang2 (TFYGGSRGKRNNFKTEEY) es un péptido diseñado a partir del dominio Kunitz que se une al receptor LRP1 en la Sangre Barrera del cerebro (BBB), por lo tanto, mejorará la prestación del nanoconjugado al SNC [20,21]. El péptido D1 (QSHYRHISOAQV) se selecciona de una biblioteca de fagos y se hace de aminoácidos de la serie D, con una Kd en el rango submicromolar para los agregados A-péptido beta, una afinidad aproximadamente mil veces mayor que la utilizada anteriormente [22]. Este péptido funciona como un interruptor de lámina β y fue descubierto por imagen de espejo metodológico de presentación en fagos [22]. Este péptido ha sido probado antes y es un candidato prometedor para terapia de la enfermedad de Alzheimer [23,24].

Con el fin de evaluar la eficacia de estos nanoconjugados

dos en vivo se han usado especies modelo transgénicas [25]. Aunque aún está en estudio es una de las líneas más prometedoras.

3.3. AADvac1

Por último, presentamos a AADvac1 una de las alternativas más novedosas para abordar la enfermedad del Alzheimer de manera satisfactoria. Se trata de una vacuna todavía en fase experimental que ofrece una forma revolucionaria de combatir el problema [26]. Su acción se focaliza en el estímulo del sistema inmunitario para que éste sea capaz de generar una respuesta notable sobre las proteínas TAU, relacionadas íntimamente con la degeneración de los sistemas de transporte neuronales que derivan en una apoptosis de las células afectadas. Hasta la fecha aún no se habían intentado soluciones enfocadas en este tipo de terapias o no habían tenido el éxito esperado.

Se ha realizado un estudio para comprobar la validez de estos supuestos en el que se llevó a cabo el primer ensayo en personas con la vacuna en fase 1. Para ello se hizo un ensayo doble ciego durante 12 semanas con un grupo reducido de pacientes afectados por Alzheimer y un estadio de nivel medio a moderado con un posterior periodo de extensión de 12 semanas en los que se realizó un seguimiento detallado. A los pacientes elegidos se les inyectaron dosis del fármaco mensualmente y los resultados obtenidos se contrastaron con los pacientes tratados con el placebo. Los enfermos fueron elegidos de forma aleatoria según los criterios mostrados en la imagen 5:

El tratamiento en los pacientes no mostró reacciones adversas asociadas a excepción de un paciente que sufrió una infección viral y ataques epilépticos que pudo estar relacionado con el fármaco, aunque no con total seguridad. Los efectos secundarios más comunes y de escasa importancia en todos los pacientes fueron irritaciones en el lugar de la inyección. [27]

Se ha investigado que la proteína TAU posee determinados dominios que son imprescindibles para la interacción de las TAU patológicas en Alzheimer. Si se realiza un direccionamiento del sistema inmune hacia estos dominios presentes en la proteína sería posible acabar con los agregados de la proteína TAU y la degeneración neurofibrilar asociada. Con la vacuna AADvac1 se intenta tratar de una manera más eficaz las hiperfosforilaciones que tienen lugar en TAU mediante la creación de fosfoepítopos que conduzcan a la eliminación de los mismos y con ello de todas las características de las patologías neurofibrilares. En este ensayo un péptido de TAU junto con su epítopo se inyectaría en el organismo afectado con el fin de inducir una respuesta humoral suficiente y que sea capaz de hacer diferencia entre las tau patológicas o las que no lo son. [28]

Cabe decir que los ensayos descritos hasta la fecha con resultados favorables y que dan margen de maniobra a esta terapia habían sido probados en ratas transgénicas y que pese a su buena respuesta solamente ofrecen una so-

lución aún por dilucidar. [28] Del primer ensayo en humanos entonces cabe esperar realizarse una par de preguntas con el fin de aclarar el asunto: ¿genera la vacuna AADvac1 una respuesta del sistema inmune? ¿Es AADvac1 realmente efectiva?

	AADvac1 (n=24)	Placebo (n=6)
Age (years)	67.7 (6.5)	68.5 (12.4)
Time in education (years)	11.3 (3.4)	13.0 (4.4)
Sex		
Male	11 (46%)	6 (100%)
Female	13 (54%)	0
Ethnic origin		
White	24 (100%)	6 (100%)
Non-white	0	0
MMSE	20.7 (3.9)	20.3 (4.5)
Time since AD diagnosis (years)	1.9 (1.5)	2.0 (0.9)
APOE status		
Carrier	14 (58%)	4 (67%)
Non-carrier	10 (42%)	2 (33%)
Smoking habits		
Smoker	0	1 (17%)
Non-smoker	24 (100%)	5 (83%)
Medication status		
Receiving standard AD medication	22 (92%)	5 (83%)
Not receiving standard AD medication	2 (8%)	1 (17%)
Duration of previous AChEI treatment (months)	17.6 (15.8); 7.25 (3.25-33.25)	16.5 (9.0); 16 (2.63-21.25)
Modified Hachinski score	1.0 (0.9); 2 (1-3)	0.8 (0.8); 1.25 (1-2)
GDS	1.1 (1.3); 1.75 (1-4)	1.5 (1.2); 2.25 (2-3)

Data are mean (SD), n (%), or median (IQR). MMSE=Mini-Mental State Examination. AD=Alzheimer's disease. AChEI=acetylcholinesterase inhibitor. GDS=Geriatric Depression Scale.

Table 1: Baseline characteristics

Imagen 5. Tabla en la que se muestran los perfiles y características de los sujetos escogidos para el ensayo doble ciego en la que se hace diferencia entre los pacientes tratados con el placebo y con AADvac1. [27]

Al recurrir a los resultados de este informe observamos que en el ensayo doble ciego se puede ver como en los pacientes vacunados existe una respuesta inmune específica contra las proteínas TAU patológicas, como se observa en la imagen 6:

Tras finalizar el ensayo y mediante un seguimiento exhaustivo no se han hallado evidencias de la existencia de posibles edemas o hemorragias como ocurre en otras inmunoterapias contra las proteínas beta-amiloides. Por todo ello, la vacuna AADvac1 presenta un perfil de seguridad y de respuesta inmunológica prometedor [27]. Por ahora son pocos los estudios que se están llevando a cabo sobre esta vacuna. Por ello, son necesarios todavía años de investigación, además de distintos focos de acción que profundicen en esta alternativa, con el fin de proporcionar una solución viable a una de las enfermedades que azota con más fuerza la sociedad actual.

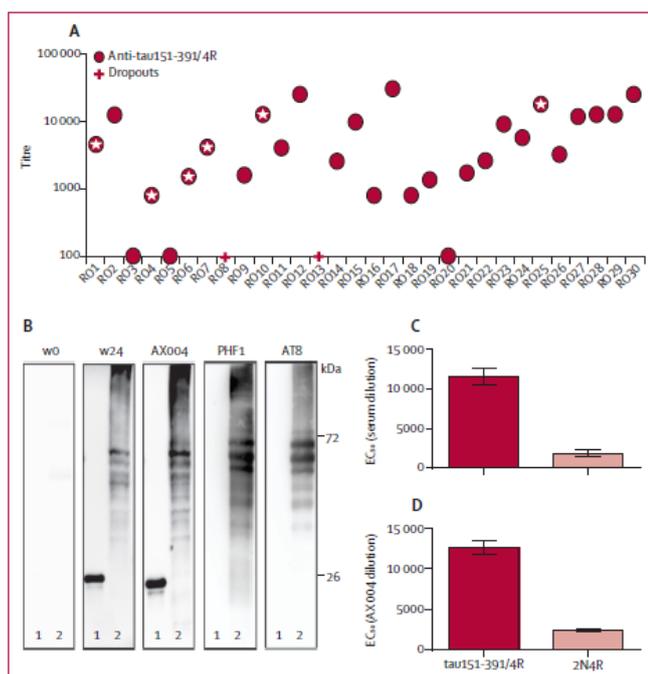


Imagen 6. En la imagen se puede observar: A) Disposición de anticuerpos contra la tau patológica (tau151-391/4R) en el suero extraído de los pacientes después de ser tratados con seis dosis de AADvac1. Las estrellas representan los placebos mientras que las cruces son los casos que no se encuentran dentro de los parámetros establecidos. B) Inmunoblot de los anticuerpos inducidos por la vacuna AADvac1 en la línea 1 y proteína tau patológica aislada del cerebro humano en la línea 2. En la calle representativa (w24) se observa detección de anticuerpos específicos provenientes del suero del paciente 17, que son iguales a los obtenidos en la forma análoga de la vacuna con anticuerpos humanos (AX004). En las calles 3 y 4 se observan anticuerpos de referencia PHF1 y AT8, así como el control (w0) de la primera calle. C) Anticuerpos específicos inducidos por AADvac1 capaces de discriminar entre la tau patológica y la tau fisiológica analizados por método ELISA en el que se fijó ambas proteínas tau. D) Diferencias de afinidad de los anticuerpos humanos contra la tau patológica (AX004) entre la proteína tau patológica (tau151-391/4R) y la tau fisiológica (2N4R). [27]

4. CONCLUSIONES

En primer lugar, ante las dos hipótesis presentadas, nos pareció que la hipótesis de las proteínas beta-amiloide debería ser la opción más acertada en la lucha contra la enfermedad, pues busca atacar directamente a las placas beta-amiloide, principales responsables de los distintos deterioros cognitivos y destrucción de áreas cerebrales. No obstante, sus fármacos no tuvieron efecto, al menos hasta ahora, mientras que los de la hipótesis colinérgica sí que alcanzaron el mercado.

Seguidamente, nos planteamos la hipótesis de si, una vez el Aducanumab supere la fase clínica y alcance el

mercado, un tratamiento conjunto de fármacos procedentes de ambas hipótesis tendría un efecto sinérgico y lograría unos mayores efectos frente a los que alcanzaría un tratamiento simple. Para dilucidarlo, deberían llevarse a cabo ensayos para evaluarlo y contemplar si la vida media, la eficacia o la seguridad de los fármacos no se ven empeorados, pero claro, antes se debe de estar seguro sobre la eficacia/seguridad del aducanumab por sí solo. Concluimos pues que el Alzheimer es, hoy día, una enfermedad muy sufrida en el mundo. De muchas maneras se han intentado combatir sus síntomas pero aún no se ha hallado una cura definitiva, a pesar de todos los fármacos que han salido al mercado y de los distintos ámbitos cerebrales donde actúan. Aunque, a primera vista, las nuevas terapias que se han mostrado parecen ser esperanzadoras en esta lucha, aún quedan muchas pruebas por realizar para definir su eficacia y seguridad.

En adición y para finalizar, es remarcable el hecho de que el ambiente en que se desarrolla la vida del paciente influye, en gran medida, sobre el retraso en la aparición de los síntomas. Llevar una vida social y familiar agradable, realizar ejercicio físico y evitar cualquier clase de estrés son aspectos determinantes en la lucha contra esta enfermedad.

REFERENCIAS

- [1] Hardy J., Allsop D. "Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease". *Trends in Pharmacological Sciences* (1991). Volume 12: 383-388.
- [2] Hooper N. M. "Roles of proteolysis and lipid rafts in the processing of the amyloid precursor protein and prior protein". *Biochemical Society Transactions* (2005). Volume 33: 335-338.
- [3] Hernández F., Ávila J., "Tauopathies". *Cellular and Molecular Life Sciences* (2007). Volume 64: 2219-2233.
- [4] Wenk G. L., "Neuropathologic Changes in Alzheimer's Disease". *J Clin Psychiatry* (2003). Volume 64 (Supplement 9): 7-10.
- [5] <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/t002.htm>
- [6] Birks J., Harvey R. J. "Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease". *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (2006), Issue 1. Article n°: CD001190.pub2.
- [7] Birks J., Grimley Evans J. "Rivastigmine for Alzheimer's disease". *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2015), Issue 1. Article n°: CD001191.pub4.
- [8] <http://www.vademecum.es/principios-activos-memantinaN06DX01>
- [9] <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/m071.htm>
- [10] Reisberg B., Doody R., Stöfler A., Schmitt F., Ferris S., Jörg Möbius H. "Memantine in Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease". *The New England Journal of Medicine* (2003). Volume 348 (Number 14): 1333-1341.
- [11] Tariot P. N., Farlow M. R., Grossberg G. T., Graham S. M., McDonald S., Gergel I. "Memantine Treatment in Patients With Moderate to Severe Alzheimer Disease Already Receiving Donepezil. A Randomized Controlled Trial". *JAMA: The Journal of the American Medical Association* (2004). Volume 291 (Number 3): 317-324.

- [12] Sevigny J., Chiao P., Bussière T., Weinreb P. H., Williams L., Maier M., Dunstan R., Salloway S., Chen T., Ling Y., O’Gorman J., Qian F., Arastu M., Li M., Chollate S., Brennan M. S., QuinteroMonzon O., Scannevin R. H., Moore Arnold H., Engber T., Rhodes K., Ferrero J., Hang Y., Mikulskis A., Grimm J., Hock C., Nitsch R. M., Sandrock A. “The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer’s disease.” *Nature* (2016) Volume 537: 50-56.
- [13] Bohrmann, B. et al. “Gantenerumab: a novel human anti-A β antibody demonstrates sustained cerebral amyloid- β binding and elicits cell-mediated removal of human amyloid- β ”. *J. Alzheimers Dis.* (2012) Volume 28: 49-69.
- [14] Link S, El-Sayed MA. “Optical properties and ultrafast dynamics of metallic nanocrystals”. *Annu Rev Phys Chem* 2003; 54: 331-66.
- [15] Adura C, Guerrero S, Salas E, Medel L, Riveros A, Mena J, et al. “Stable conjugates of peptides with gold nanorods for biomedical applications with reduced effects on cell viability.” *ACS Appl Mater Interfaces* 2013; 5: 4076-85.
- [16] Guerrero S, Araya E, Fiedler JL, Arias JJ, Adura C, Albericio F, et al. “Improving the brain delivery of gold nanoparticles by conjugation with an amphipathic peptide”. *Nanomedicine (Lond)* 2010; 5: 897-913.
- [17] Liao YH, Chang YJ, Yoshiike Y, Chang YC, Chen YR. “Negatively charged gold nanoparticles inhibit Alzheimer’s amyloid-beta fibrillization, induce fibril dissociation, and mitigate neurotoxicity”. *Small* 2012; 8: 3631-9.
- [18] Araya E, Olmedo I, Bastus NG, Guerrero S, Puentes VF, Giralte E, Kogan MJ. “Gold Nanoparticles and Microwave Irradiation Inhibit Beta-Amyloid Amyloidogenesis”. *Nanoscale Research Letters* 2008; 3: 435-443
- [19] Kogan MJ, Bastus NG, Amigo R, Grillo-Bosch D, Araya E, Turiel A, et al. “Nanoparticle-mediated local and remote manipulation of protein aggregation”. *Nano Lett* 2006;6: 110-5.
- [20] Demeule M, Currie JC, Bertrand Y, Che C, Nguyen T, Regina A, et al. “Involvement of the low-density lipoprotein receptor-related protein in the transcytosis of the brain delivery vector angiopep-2”. *J Neurochem* 2008;106: 1534-44.
- [21] Demeule M, Regina A, Che C, Poirier J, Nguyen T, Gabathuler R, et al. “Identification and design of peptides as a new drug delivery system for the brain”. *J Pharmacol Exp Ther* 2008;324: 1064-72
- [22] Xue D, Zhao M, Wang YJ, Wang L, Yang Y, Wang SW, “et. A multifunctional peptide rescues memory deficits in Alzheimer’s disease transgenic mice by inhibiting Abeta42-induced cytotoxicity and increasing microglial phagocytosis”. *Neurobiol Dis* 2012;46: 701-9.
- [23] Funke SA, Bartnik D, Gluck JM, Piorkowska K, Wiesehan K, Weber U, et al. “Development of a small D-enantiomeric Alzheimer’s amyloid-beta binding peptide ligand for future in vivo imaging applications”. *PLoS One* 2012; 7: e41457.
- [24] Wiesehan K, Stohr J, Nagel-Steger L, van Groen T, Riesner D, Willbold D. “Inhibition of cytotoxicity and amyloid fibril formation by a D-amino acid peptide that specifically binds to Alzheimer’s disease amyloid peptide”. *Protein Eng Des Sel* 2008; 21: 241-6.
- [25] Kaletta T, Hengartner MO. “Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism”. *Nature Reviews Drug Discovery* 2006; 5: 387-399.
- [26] Godyń J, Jończyk J, Panek D, Malawska B. “Therapeutic strategies for Alzheimer’s disease in clinical trials”.
- [27] Novak, P. “Safety and immunogenicity of the tau vaccine AADvac1 in patients with Alzheimer’s disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial”. *Lancet Neurology*. 2016.
- [28] Kontsekova E, Zilka N, Kovacech B, Novak P, Novak M. “First-in-man tau vaccine targeting structural determinants essential for pathological tau-tau interaction reduces tau oligomerisation and neurofibrillary degeneration in an Alzheimer’s disease model”.

Ejercicio físico en la Fibromialgia.

M^a Auxiliadora Pérez Carmona

Resumen— La Fibromialgia es una patología crónica con etiología poco conocida que ha ido adquiriendo en nuestra sociedad gran impacto tanto clínico como social. De esta forma, el presente artículo pretende unificar los diferentes tratamientos relacionados con el ejercicio físico como medio para mejorar la calidad de vida y paliar los síntomas de los pacientes afectados.

Palabras Claves— Fibromialgia, Ejercicio Terapéutico, Tratamiento.



1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la esperanza de vida en la población actual y el desarrollo de la sociedad ha supuesto la aparición de diversas patologías, que aunque de origen poco conocido han tenido gran impacto tanto clínico como social [1].

Entre estas patologías encontramos la Fibromialgia, que es un síndrome de origen aun difuso relacionado con el dolor crónico, que ha ido adquiriendo una creciente importancia hasta convertirse en la actualidad en un problema de salud pública [2].

El síndrome de Fibromialgia (SFM) ha sido definido por el American College of Rheumatology (ACR) como un estado de dolor generalizado, con un umbral de dolor reducido y síntomas característicos como la fatiga, alteración del sueño, rigidez generalizada, trastornos cognitivos o estado de ánimo perturbado [3].

La búsqueda de tratamientos que palien los síntomas de la Fibromialgia se debe por varios factores como la alta prevalencia del SFM en la población adulta, siendo el género femenino el mayoritario; el insuficiente conocimiento de las causas y los mecanismos que provocan dicha enfermedad; la ausencia de tratamiento que cure el SFM y la insatisfacción de los pacientes en el abordaje actual del síndrome [4] [5].

Así, en la búsqueda de tratamientos que mejoren la calidad de vida y los síntomas de los pacientes con SFM ha tenido una creciente importancia el ejercicio físico.

Por ello, la presente revisión sistemática pretende recoger la información más actual sobre la eficacia de

los diferentes tratamientos para las personas con Síndrome de Fibromialgia relacionados con el ejercicio físico, para agrupar los conocimientos científicos y de este modo, ayudar en la búsqueda de programas de entrenamientos para la mejora de los síntomas de los pacientes que sufren la enfermedad.

2. METODOLOGÍA.

En la realización de esta revisión sistemática, se han utilizados las siguientes bases de datos: Pubmed/Medline, Dialnet, PEDro y Scielo.

Los criterios de selección de artículos relacionados con el tratamiento no farmacológico que supone el ejercicio físico en pacientes con SFM, se han relacionado con:

estudios relacionados con el ejercicio terapéutico realizados con adultos; pacientes diagnosticados siguiendo los criterios de la Sociedad Americana de Reumatología de 2010; estudios de ensayos clínicos aleatorizados, estudios piloto y estudios-quasirandomizados no incluyendo revisiones sistemáticas o estudios experimentales sin concluir; artículos publicados en los últimos 5 años.

3. RESULTADOS

La búsqueda de artículos siguiendo los criterios de selección anteriormente citados, supuso un resultado de 9 artículos seleccionados (Estudios piloto: 1; Estudios preliminares no controlados: 1; Estudios clínicos controlados: 7). Estos artículos han sido agrupados según el tipo de ejercicio realizado por los pacientes por lo que se han encontrado tres temáticas: ejercicio físico

en medio acuático, entrenamiento combinado y ejercicio alternativo.

3.1. FIBROMIALGIA Y EJERCICIO FÍSICO EN EL MEDIO ACUÁTICO.

Con relación al ejercicio en medio acuático, el estudio de Pérez de la Cruz *et al.* [6], se ha observado el efecto de la terapia acuática de Ai Chi (combinación de Tai Chi y Qi Qong, donde se combinan ejercicios de respiración y musicoterapia), observándose una mejora significativa de la salud física y mental, calidad de vida y dolor. De esta forma se observan los efectos que el ejercicio acuático unido a ejercicios de respiración (que tienen además un carácter psicológico de relajación) y la música puede suponer una mejora en los síntomas de los pacientes.

Por otro lado, según el estudio de López-Rodríguez *et al.* [7], en la realización de biodanza acuática por pacientes con SFM se encuentran mejoras relacionadas con la calidad del sueño, ansiedad, impacto de la fibromialgia, dolor y puntos gatillos, aunque sin mejoras en la variable de depresión.

Además se han comparado los efectos entre la biodanza acuática y el stretching en pacientes de SFM encontrando mejoras en todas las variables estudiadas en el grupo que realizó biodanza en medio acuático. En cambio, el grupo que realizaba stretching no se encontraron diferencias significativas en dichas variables, exceptuando la disminución del dolor en algunos puntos sensibles [8].

Estas mejoras se relacionan con el hecho de la velocidad del movimiento en el agua y del cambio en el efecto de la gravedad en este medio, que supondrían mayor control y menor intensidad del ejercicio con relación a las personas que padecen Síndrome de Fibromialgia

3.2. FIBROMIALGIA Y ENTRENAMIENTO COMBINADO.

Además de los estudios sobre entrenamiento en medio acuático se han encontrado como ejercicio terapéutico para pacientes con Fibromialgia, estudios en los que se utilizan entrenamientos combinados como medio para mejorar la salud y la calidad de vida de los pacientes.

Algunos programas relacionados con el ejercicio aeróbico, como el de Giannotti *et al.* [9], que comprueba

los efectos de un entrenamiento aeróbico unido a un programa de educación del paciente y ejercicios de estiramiento o movilización articular, muestran mejoras relacionadas con la rigidez y la movilidad de la columna vertebral a medio y largo plazo.

El estudio de García-Martínez *et al.* [10], en el que se realizó un programa de ejercicio aeróbico también muestra mejoras significativas en la flexibilidad del tren inferior, autoestima, autoconcepto y dolor, observándose así una mejora de la calidad de vida.

Sarifakioglu *et al.* [11], realizaron un estudio basado en el ejercicio aeróbico combinado con entrenamiento de fuerza, observando una mejora en los niveles de estrés oxidativo (disminución), y antioxidantes (aumento).

Por otro lado, Espí-López *et al.* [12], realizó un estudio observando la respuesta de un programa de entrenamiento con o sin música, encontrando mejoras en las variables estudiadas en el ejercicio aeróbico realizado con música.

3.3. FIBROMIALGIA Y EJERCICIO ALTERNATIVO.

Actualmente, debido al aumento de personas diagnósticas con Síndrome de Fibromialgia, se han propuesto ejercicios alternativos para paliar sus síntomas.

De esta forma, Maddali Bongi *et al.* [13], realizaron un estudio utilizando ejercicios terapéuticos denominados cuerpo-mente como es el caso del Tai Ji, encontrando así mejoras significativas relacionadas con la salud general, vitalidad, rol emocional, disminución de la ansiedad y depresión y en la calidad de vida de los pacientes que realizaron el entrenamiento.

Rudrud *et al.* [14], llevaron a cabo un estudio con pacientes de SFM en el que se utilizó un tipo de yoga llamado Hatha observándose mejoras relacionadas con la disminución del dolor en los pacientes.

Por otro lado, Kibar *et al.* [15], plantearon un estudio sobre la efectividad de un programa de ejercicios de flexibilidad y equilibrio, en comparación con un programa que solo tenía ejercicios de flexibilidad. Así, se observaron mejoras en las variables de depresión, déficit de equilibrio y riesgo de caídas.

Así, se ha observado la relación entre la práctica deportiva y el carácter psicológico de algunas actividades, y

el efecto positivo de este tipo de programas de entrenamiento.

4. CONCLUSIONES

La presente revisión sistemática, aporta la unificación de diferentes tipos de entrenamientos que han demostrado tener un efecto positivo en el tratamiento del Síndrome de la Fibromialgia. Con ello, podemos afirmar que diversos tratamientos de ejercicio terapéutico, han supuesto mejoras en los síntomas de los pacientes con esta enfermedad, aumentando su calidad de vida. Siendo, el ejercicio físico un tipo de tratamiento no farmacológico de bajo coste, la idea de su realización controlada e individualizada en terapias multidisciplinarias supone un avance para la mejora de los pacientes en su enfermedad. Así, se han encontrado diferentes artículos científicos en los que no se utiliza una población adecuada al utilizar un criterio diagnóstico obsoleto, como es el caso del criterio diagnóstico de la ACR de 1990 [16].

Por ello, tras la presente revisión sistemática, se afirma que la práctica regular de ejercicio físico óptimo supervisado por profesionales en la materia y junto con un tratamiento multidisciplinar en pacientes con fibromialgia, supone una mejora en la capacidad física y emocional de estos.

La fibromialgia es un síndrome con una elevada prevalencia en la población. Por ello, la investigación relacionada con los síntomas de la enfermedad y los posibles tratamientos para la mejora de estas, es de gran importancia en el ámbito de la salud. Hacia las nuevas investigaciones, sería de importancia realizar artículos con pacientes diagnosticados con los nuevos criterios de 2010. Además, se encuentran pocos artículos que incluyan pacientes de género masculino que sería importante para observar diferencias o efectos de los diferentes tratamientos. Por otro lado, no se han encontrado artículos de ejercicio físico con pacientes de Fibromialgia en deportes de equipo, siendo este rol importante, ya que la adherencia al ejercicio físico en estos pacientes es baja.

REFERENCIAS

- [1] M. G. Montoya, Á. P. Martín, A. M. Salio, J.V. Fuentes, E. A. Alberch, and A. G. De la Cámara. "Documento de Consenso interdisciplinar para el tratamiento de la fibromialgia," *Actas Esp Psiquiatr*, vol. 38, no. 2, pp. 108-120, 2010.
- [2] J. Rivera, C. Alegre, F. J. Ballina, J. Carbonell, L. Carmona, B. Castel, and M. A. Vallejo. "Documento de consenso de la Sociedad Española de Reumatología sobre la fibromialgia," *Reumatología Clínica*, vol. 2, S55-S66, 2006
- [3] F. Wolfe, D. J. Clauw, M. A. Fitzcharles, D. L. Goldenberg, R. S. Katz, P. Mease, and M. B. Yunus. "The American College of Rheumatology preliminary diagnostic criteria for fibromyalgia and measurement of symptom severity," *Arthritis care & research*, vol. 62, no. 5, pp. 600-610, 2010.
- [4] E. Del Río González, A. G. Palacios, and C. B. Arbona. "Calidad de vida en fibromialgia: Influencia de factores físicos y psicológicos," *Psicología Conductual*, vol. 22, no. 1, pp. 19, 2014.
- [5] D. Munguía, A. Legaz, F. J. Berra, and P. Tomas-Carus, *Guía de práctica clínica sobre el síndrome de fibromialgia para profesionales de la salud*. Elsevier, 2007.
- [6] S. Pérez de la Cruz, J. Lamberck, "Efectos de un programa de Ai Chi acuático en pacientes con fibromialgia. Estudio piloto," *Rev Neurol*, vol. 60, no. 2, pp. 59-65, 2015.
- [7] M. López-Rodríguez, A. Castro-Sánchez, M. Fernández-Martínez, G. Matarán-Peñarocha, and M. Rodríguez-Ferrer. "Comparación entre biodanza en el medio acuático y stretching en la mejora de la calidad de vida y dolor en los pacientes con fibromialgia," *Atención Primaria*, vol. 44, no. 11, pp. 641-649, 2012.
- [8] M. López-Rodríguez, M. Fernández-Martínez, G. Matarán-Peñarocha, and M. Rodríguez-Ferrer, G. Granados Gámez, and E. Aguilar Ferrándiz. "Efectividad de la biodanza acuática sobre la calidad del sueño, la ansiedad y otros síntomas en pacientes con fibromialgia," *Medicina Clínica*, vol. 141, no. 11, pp. 471-478, 2013.
- [9] A. M. García Martínez, J. A. De Paz, and S. Márquez. "Effects of an exercise programme on self-esteem, self-concept and quality of life in women with fibromyalgia: A randomized controlled trial," *Rheumatol Int*, no. 32, pp. 2285-2292, 2012.
- [10] E. Giannotti, K. Koutsikos, M. Pigatto, M. Rampudda, A. Doria, and S. Masiero. "Medium-/Long-Term Effects of a Specific exercise protocol combined with patient education on spine mobility, chronic fatigue, pain, aerobic fitness and level of disability in Fibromyalgia," *BioMed Research International*, pp. 1-9, 2014.
- [11] B. Sarifakioglu, E. Güzel, S. Güzel, and A. Kiziler. "Effects of 12-week combined exercise therapy on oxidative stress in female fibromyalgia patients," *Rheumatology International*, vol. 34, no. 10, pp. 1361-1367, 2014.
- [12] G. Espí-López, M. Inglés, M. Ruescas-Nicolau, and N. Moreno-Segura. "Effect of low-impact aerobic exercise combined with music therapy on patients with fibromyalgia. A pilot study," *Complementary Therapies in Medicine*, no. 28, pp. 1-7, 2016.
- [13] S. Maddali Bongi, G. Paoletti, M. Calà, A. Del Rosso, K. El Aoufy, and S. Mikhaylova. "Efficacy of rehabilitation with Tai Ji Quan in an Italian cohort of patients with Fibromyalgia Syndrome," *Complementary Therapies in Clinical Practica*, no. 24, pp. 109-115, 2016.
- [14] L. Rudrud, "Gentle Hatha Yoga and Reduction of Fibromyalgia-Related Symptoms: A preliminary Report," *International Journal of Yoga Therapy*, no. 22, pp. 53-57, 2012.

- [15] S. Kibar, H. Yildiz, S. Ay, D. Evcik, and E. Ergin. "New approach in Fibromyalgia Exercise program: A preliminary study regarding the effectiveness of balance training," *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 96, no. 6, pp. 1576-1582, 2015.
- [16] F. Wolfe, H. A. Smythe, M. B. Yunus, R. M. Bennett, C. Bombardier, D. L. Goldenberg, and A. G. Fam, A. G. "The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia," *Arthritis & Rheumatology*, vol. 33, no. 2, pp. 160-172, 1990.



Mª Auxiliadora Pérez Carmona Graduada en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte por la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. Actualmente cursando el máster universitario en Profesorado de Enseñanza Secundaria Obligatoria y Bachillerato, Formación Profesional y Enseñanza de Idiomas por la Universidad de Sevilla.

Low-Perturbation Optoelectronic Measuring Techniques. What are they and what are they good for?

Antonio Jesús Riquelme Expósito

Abstract— In the Nanostructured Solar Cells Group at UPO we like to experiment with solar cells. We always treat them with care and delicacy, as we always use a small perturbation to analyze their response. This small perturbation can be an optical blink, of different colours or electrical, at either at a pleasant room temperature or at freezing cold conditions, in either total darkness or under extreme light soaking. Normally, all cells behave well, although perovskites ones do not appear to stand well our treatments. In any case, they always provide us with tasty information, in the form of resistances and capacitances, or kinetic constants, of different sorts. In addition, we like to run simulations and devise models of reference, to better understand their complex behavior. We do not know if we do it well or badly, but we always do it with frequency and intensity.

Key Words— Characterization, EIS, IMPS, IMVS, Spectroscopy.

1. INTRODUCTION

Elucidating the behavior of the electrons inside our devices is a titanic juggling act. However, luckily for us, we have a great mix of tools at our disposal. This article will focus on low-perturbation optoelectronic measuring techniques, due to their current relevance on the field.

These techniques work by subjecting the device we want to characterize to a small electrical or optical stimulus, modulated in frequency, while keeping known conditions of voltage or steady light intensity.

It is needed to bear in mind that inside a solar device in operation many different processes take place, at different time scales and loading conditions. The idea behind small-perturbations is to separate these processes and to simplify the kinetics by assuming that small perturbation implies first order kinetics. In first order kinetics, the time evolution is described by **equation 1**.

$$n(t) = n_0 e^{-k_1 t} \quad (1)$$

where n is the electron density and k_1 is a first-order kinetic or rate constant.

There are three kinds of techniques under the low-perturbation optoelectronic measuring concept. These are Impedance Spectroscopy (EIS), Photocurrent Spectroscopy (IMPS) and Photovoltage Spectroscopy (IMVS).

2. SMALL-PERTURBATION TECHNIQUES

The three small-perturbation optoelectronic measuring techniques can be described by a universal **equation (2)**.

$$Z(\omega) = \frac{S(\omega)}{P(\omega)} \quad (2)$$

Where P represents the Perturbation, S means the signal recorded and Z is the so-called transfer function. All of them are angular frequency (ω) dependent. As we will see later, the most operative way of defining a transfer function is a complex number. The origin of the perturbation and the signal received indicated in equation (2) can vary. The full range of combinations is shown in **Table 1**.

TABLE 1

TRANSFER FUNCTIONS DEPENDING ON PERTURBATION AND RESPONSE

Transfer Function	Perturbation	Response	What we expect to find
EIS	Voltage	Current	Transport and Recombination
IMPS	Light (optical)	Short-circuit Current	Transport and Transfer
IMVS	Light (optical)	Open-circuit Voltage	Recombination

2.1. Electrical Impedance (EIS)

This technique measures the “hindrance” (resistance) presented by a circuit to a current when a voltage is applied. This useful tool allows us to understand the internal behavior of a solar device, elucidating the processes that take place inside of it.

This technique consists in applying a small perturbation of the voltage that is applied by a sinusoidal perturbation of low amplitude. The current response is also sinusoidal that depends on the frequency of the modulation. Both, response and perturbation show the same frequency in their sinusoidal behavior. However, as shown in **Figure 1**, the response can have a phase shift due (φ) to internal electric process that are taking place in the material that we are studying [1].

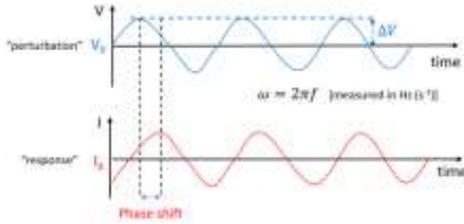


Fig 1. Impedance response in a linear system.

If we consider **Equation 2**, and **Table 1**, the perturbation for EIS is a voltage, and the response is received as current density. This is the definition of electric resistance of a simple circuit, given by Ohm's Law.

Applying a generalization of Ohm's Law and the phase shift described in **Figure 1**, we can assume **Equation 3** to describe the electrical impedance of an electrical device.

$$Z(\omega) = \frac{V(\omega)}{I(\omega)} = \frac{\Delta V \sin(\omega t)}{\Delta I \sin(\omega t + \varphi)} = |Z| \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \varphi)} \quad (3)$$

where we have two terms, $|Z|$ is the impedance magnitude, and the other measures the phase shift between perturbation and response.

As mentioned above, using complex numbers enables a more simply representation of the magnitude being used and input and output phases. To accomplish this, we use Euler's relation to determine a mathematical expression in terms of Z_0 , which represents the impedance magnitude, and the phase shift φ , that can also be separated in two components, one real and another imaginary, as shown in **Equation 4**.

$$Z = |Z|e^{-j\varphi} = |Z| \cos(\varphi) - |Z| \sin(\varphi) \quad (4)$$

2.2. IMPS and IMVS

IMPS and IMVS are two closely related techniques. In both of them the intensity of a light source is modulated, and its response in the device is measured as a function of modulation frequency. IMPS is normally performed under short circuit conditions, and gives us information about carrier transport. On the other hand, IMVS is normally performed at open circuit and gives us information about recombination [2].

The way of performing these experiment is to set a base intensity of light focused on the device, and superimpose a light perturbation with sinusoidal waveform. During the experiment the frequency of this perturbation changes, giving us time-dependent information about several processes like diffusion coefficients and lengths or reaction rates[3]. This information is contained in a certain set of rate or *time constants*.

As done before with Electrical Impedance, we can relate **Equation 2** and **Table 1**, and assuming the mathematical logical process, concerning Euler's relation, we can describe the transfer functions for IMPS (Y) and IMVS (Z_{PV}) with **Equation 5** and **Equation 6**.

$$Y(\omega) = \frac{I(\omega)}{I(\omega)} = \frac{\Delta I \sin(\omega t)}{\Delta I \sin(\omega t + \varphi)} = |Y| e^{i\varphi} = |Y| \cos(\varphi) - |Y| \sin(\varphi) \quad (5)$$

$$Z_{PV}(\omega) = \frac{V(\omega)}{I(\omega)} = \frac{\Delta V \sin(\omega t)}{\Delta I \sin(\omega t + \varphi)} = |Z_{PV}| e^{i\varphi} = |Y| \cos(\varphi) - |Y| \sin(\varphi) \quad (6)$$

2.3. Connection between the techniques

It is easy to demonstrate that the three small-perturbation techniques (EIS, IMPS and IMVS) are related by definition by equation 7:

$$Z(\omega) = \frac{Z_{PV}(\omega)}{Y(\omega)} \quad (7)$$

where $Z(\omega)$ is the solar cell impedance, $Z_{PV}(\omega)$ is the solar cell IMVS and $Y(\omega)$ is the IMPS [4].

The parallel combination of these three techniques provides a very useful tool for a direct analytical description by identifying charge storage modes via system capacitances in addition to charge transfer by resistance components.

2.4. Good practices for the measurements

All these techniques need to fulfill three golden rules in order to the data collected to be reliable: linearity, causality and stability [5].

In order to meet these three conditions, we need to ensure that the applied perturbation amplitude is small enough to assume that the response of the cell is linear (which implies that **Equation 1** holds). We also need to be sure that the measured response of the device is directly correlated to the applied stimulus, and it does not come from an outside noise or any other source, which means that there is causal connection between stimulus and response. Finally, yet importantly, if we want the stability principle to be met we need to make sure that the overall state of the system does not change during the acquisition of the data (stability).

One of the ways of checking stability is performing a j-V curve or cyclic voltogram before and after the measurement, checking if any change is observed [2].

As for the linearity condition, we can use a Lissajous plot as the one in **Figure 2** that represents perturbation vs response. If the plot shows an elliptical shape with a central symmetry with respect to its origin, or a straight line, we have met linearity condition [6].

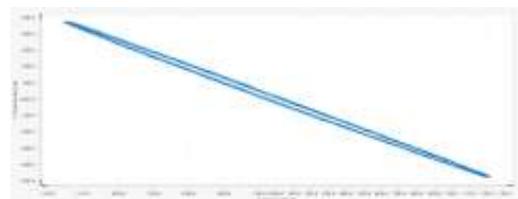


Fig 2. Example of Lissajous Plot, obtained from an IMPS experiment using a 465nm wavelength LED.

Regarding causality, we need to ensure that the measurements are performed under dark conditions, where the only illumination source is controlled by us.

3. UNDERSTANDING THE SPECTRA

The frequency analysis of the response to the perturbations enables us to gather very valuable information about transport kinetics, recombination and collection of charge, along with internal resistances and capacitances. As mentioned before, transfer functions of these three techniques have two separated components, a real and an imaginary,

which also represents the relation between the magnitude of the measured property and the phase shift between the perturbation and the device's response. These two elements are represented by Nyquist plot and Bode plot.

- **Nyquist Plot:** It represents the real component in the X-axis, and the imaginary component as Y-axis, as shown in **Figure 3**.

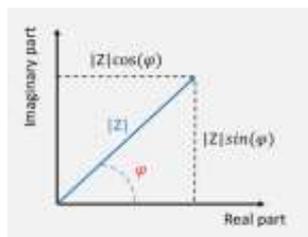


Fig 3. Representation of Nyquist plot building.

- **Bode Plot:** It represents in a double Y plot, where X-axis is the frequency and there are two Y-axis. One of them represents the magnitude of the transfer function, and the other the shift phase, as shown in **Figure 4** and **Figure 5**.

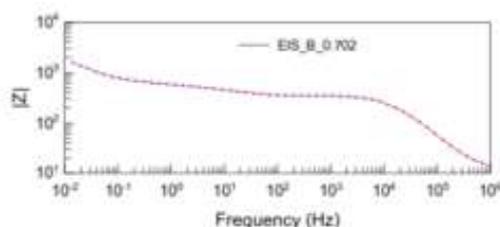


Fig 4. Representation of Y-axis referring to the Magnitude of a Bode Plot.

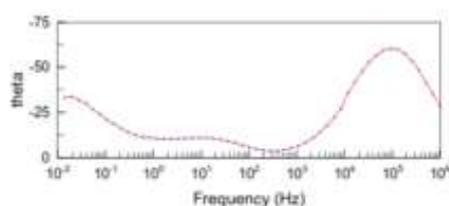


Fig 5. Representation of Y-axis referring to shift phase of a Bode Plot.

Since in the Bode Plot the frequency is represented, we can distinguish between high frequencies, medium frequencies and low frequencies phenomena, and, from the position of the peaks, we can determine the time constant of each process that we can find in our experiments and that happen in different time scales [2].

4. PRACTICAL IMPLEMENTATION: PEROVSKITE SOLAR CELLS EIS ANALYSIS

First off, we need to know that a metalorganic perovskite solar cell is a type of device with perovskite ABX_3 structure where A is a cation, normally organic, B is a metallic cation and X a halide like Br or Cl. Most common structure used is the Methylammonium lead halide, also known by its

chemical formula as $MAPbX_3$ [7]. A typical crystalline perovskite structure can also be seen in **Figure 6**. These devices are very promising, having grown its record efficiencies from 3,8% to 22,7% in less than 10 years [8].

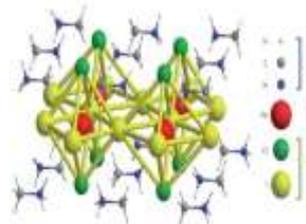


Figure 6: Methylammonium lead halide solar cell structure [9].

As we have discussed in the previous section, an EIS experiment results in a Nyquist plot and a Bode plot. In **Figure 7** and **Figure 8** appear the EIS spectra of a same device measured under different light intensities from a 630 nm wavelength LED as illumination source.

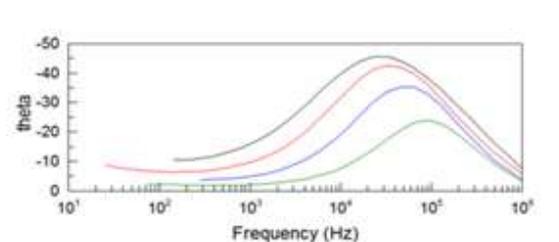


Fig 7. Example of Nyquist plot of an EIS experiment of a Perovskite solar cell.

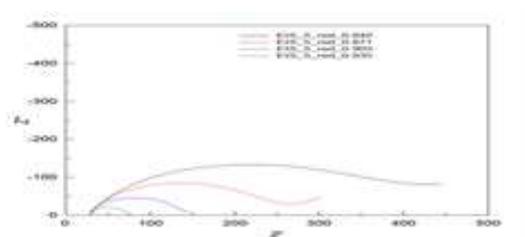


Fig 8. Example of shift phase Y-axis of a Bode plot of an EIS experiment of a Perovskite solar cell.

We can assume that every semicircle of the Nyquist Plot represents a different process taking place inside the solar device. The equivalence in the Bode plot to each semicircle that we can see in the Nyquist plot as a peak in the shift phase Y-axis of the Bode plot.

In order to give a real meaning to these figures so we can extract valuable information about the physical process behind these plots, we need to adjust the spectra to an equivalent circuit that simulates the internal electrical process in our device.

These equivalent circuits can include three elements: resistors, capacitors and inductors [2].

- Resistors introduce resistance in the circuit, which are elements that opposes to the charge flux, and their representation is the R symbol of **Figure 9**.
- Capacitors work by accumulating the electrical charge that is flowing in the circuit. The capacitance is different at each voltage applied and

their representation is the C symbol of **Figure 9**.

- Inductors represent processes that introduces new electric charge into the circuit, and they are represented by the L symbol of **Figure 9**.

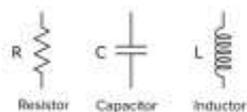


Fig 9. Symbols of Resistors, Capacitors and Inductors used in electric circuits.

We can adjust the spectra obtained in **Figure 7** and **Figure 8** using an equivalent circuit that consists on a serie resistor, normally related to the contacts of the devices and a set of a resistor and a capacitor in parallel that represents the behavior of the solar device, as shown in **Figure 10**.

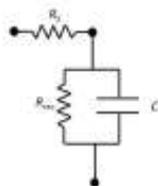


Figure 10: Example of equivalent circuit adapted to the results shown in **Figure 7** and **Figure 8**.

Using appropriate software, as ZView (Scribner), we can run automatic simulations in order to find the values of resistances and capacitances that best fits our results. By checking the Bode plot, we can determine the time scale where our process are taking place. High frequencies process are normally related to electron transport and recombination, while low frequencies are more likely to refer to ionic diffusion and interfacial charge accumulation [2].

5. CONCLUSIONS

Small-Perturbation Optoelectronic Measuring Techniques provide us with tons of information that help us to better understand the performance of solar cells and to detect internal process. In this way, we can determine the electrochemical behavior of these devices, so we can gain further understanding of charge transport and transfer efficiency to the contacts in operation conditions. These techniques have multiple applications and variants. We can collect very meaningful data not only by the techniques itself, but also by combining them with changes in the wavelength of the illumination, temperature condition or voltage level, among many others.

However, there are certain aspects and warnings that must be held into account when working with these tools. Although they are very promising and provide us with tons of data, we can be tempted to expect from the experiment more information than what it can actually give. Secondly, even though models are useful for simplifying and understanding reality, we must avoid using a model without physical significance. This means that a good fitting to

a model does not necessarily mean a correct interpretation of the impedance response.

Despite these aspects, the advantages of the Small-Perturbation Optoelectronic techniques outweigh the difficulties so we refuse to be discouraged, but we keep working trying to get the most from these techniques, among many others in the long way of elucidating the photovoltaic devices behavior.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank Professor Juan Antonio Anta and his whole team (Nanostructured Solar Cells Group) for providing me with the opportunity of specializing in the techniques mentioned in this article, by conducting a PhD research in the field.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- [1] Lasia, A., *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*, DOI 10.1007/978-1-4614-8933-7_2, Springer Science+Business Media New York, 2014, pp 7 – 20, 48 – 62.
- [2] Guillén, E., Ramos, F.J., Anta, J.A., Ahmad, S., *Elucidating Transport-Recombination Mechanisms in Perovskite Solar Cells by Small-Perturbation Techniques*, *J. Phys. Chem. C* 2014, 118, 22913-22922.
- [3] Bertoluzzi, L.; Bisquert J., *Investigating the Consistency of Models for Water Splitting System by Light and Voltage Modulated Techniques*, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2017, 8, 172-180.
- [4] Halme, J., *Linking optical and electrical small amplitude perturbation techniques for dynamic performance characterization of dye solar cells*, *Phys. Chem. Phys.*, 2011, 13, 12435-12446.
- [5] Lvovich, V. F., *Impedance Spectroscopy: Applications to Electrochemical and Dielectric Phenomena*; Wiley: Somerset, USA, 2012.
- [6] Orazem, M.E.; Tribollet, B. *Electrochemical Impedance Spectroscopy*; 2011th ed.; Joh Wiley & Sons.
- [7] Kojima, A.; Teshima, K.; Shirai, Y.; Miyasaka, T. *Organometal Halide Perovskites as Visible-Light Sensitizers for Photovoltaic Cells*. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131 (17), 6050-6051.
- [8] NREL. NREL: National Center for Photovoltaics Home Page <https://www.nrel.gov/pv/> (accessed Apr 8, 2018).
- [9] Antonietta, L. M. et al, *Nature Materials* 12, 2013, 1087-1089.



Antonio Jesús Riquelme Expósito graduated in Environmental Sciences at Pablo de Olavide University in 2014. He is currently conducting his PhD research on Fundamental Studies of Electronic Dynamics in Solar Cells based on hybrid perovskite.

Ramelteón: Un fármaco para la lucha contra el insomnio

Beatriz Aguilar Gómez

Resumen— Ramelteon es un medicamento para promover el sueño que tiene un mecanismo de acción único en comparación con los fármacos que se habían lanzado en los últimos 30 años. De hecho fue el primero de su familia aprobado por la FDA. Es un agonista del receptor de melatonina, pero es diferente de esta en su estructura, selectividad del subtipo de receptor, afinidad de unión, semivida de eliminación, metabolismo y eficacia. El Ramelteon se une con una alta afinidad a los receptores MT1 y MT2. Los beneficios sobre el sueño de este fármaco fueron comprobados en pacientes con insomnio primario y en voluntarios sanos con insomnio inducido. Este medicamento no presenta efectos residuales al día siguiente, ni tampoco efecto rebote de insomnio, potencial de riesgo de abuso o síndrome de abstinencia. Aun así hay aspectos que mejorar, como la selectividad a un tipo de receptor en concreto, aspectos que se han tenido en cuenta en el desarrollo de nuevos agonistas sintéticos de la melatonina como 4P-PDOT o IIK7.

Palabras Claves— Ramelteon, melatonina, insomnio, receptor MT1, receptor MT2.

1. INTRODUCCIÓN

Los trastornos del sueño son un problema cada vez más prevalente en nuestra sociedad. El más importante es el insomnio, que se define como una percepción subjetiva de dificultad para conciliar o mantener el sueño, o como la falta de sueño reparador. Se suele asociar con una significativa angustia física o mental durante el día [1].

Esta enfermedad disminuye considerablemente la calidad de vida de la persona que la padece, ya que le produce fatiga, somnolencia diurna, irritabilidad, deterioro de la función cognitiva y también de la memoria. Además, los pacientes sufren una notable disminución de la productividad laboral y un aumento del riesgo a tener accidentes. Pero las consecuencias de este trastorno no acaban ahí, y es que varios estudios han demostrado que las relaciones de riesgo entre el insomnio y los trastornos psiquiátricos son interactivas y bidireccionales. El sueño abundante puede facilitar la eliminación de los radicales libres que se producen en el cerebro durante la vigilia, pero cuando ocurre una pérdida, interrupción o perturbación del mismo, los radicales libres acumulados no se pueden eliminar. Como resultado, las características biológicas de la transmisión de señales a larga distancia y la función de las células nerviosas no se pueden recuperar de manera oportuna [2].

Actualmente, el tratamiento del insomnio implica una combinación de terapias psicológicas y conductuales y/o tratamiento farmacológico. En este último, los moduladores alostéricos positivos de los receptores GABA-A tales como los hipnóticos, tanto benzodiazepínicos como no benzodiazepínicos, son los medicamentos más comúnmente recetados. Sin embargo, sus efectos suelen

tener lugar principalmente al inicio del sueño y desaparecen si su uso es prolongado [1]. Además generan múltiples efectos secundarios y un desagradable síndrome de abstinencia al retirar el tratamiento. Es por eso por lo que los investigadores decidieron empezar a desarrollar otro tipo de fármacos.

La hormona pineal melatonina desempeña un papel muy importante en la regulación del ciclo circadiano del sueño / vigilia, además de intervenir en el estado de ánimo, las funciones inmunológicas, la carcinogénesis y la reproducción [1]. Por otra parte, se sabe que la producción de melatonina por la glándula pineal es circadiana, siendo su concentración cada vez más elevada cuando está anocheciendo, y cada vez menor cuando está amaneciendo. Esto explica su influencia cronobiótica en la actividad del organismo, incluidos los ritmos endocrinos y no endocrinos [3].

La melatonina endógena se sintetiza a partir de triptófano a través de 5-hidroxitriptamina. Se considera una indolamina desde el punto de vista químico porque la molécula contiene un anillo indólico sustituido con un grupo amino (figura 1) [3].

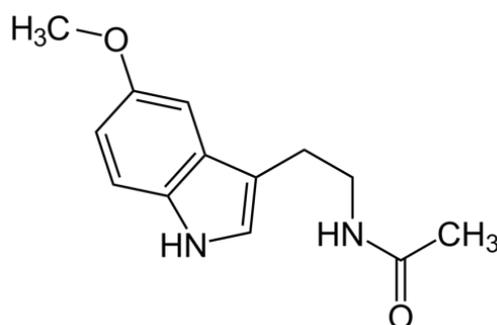


Figura 1. Estructura de la melatonina. Tomada de [4]

Durante varios años ha sido de interés explotar la farmacología de la melatonina para obtener beneficios terapéuticos en el área del sueño y los trastornos del ritmo circadiano. Esto culminó en 2005, con la aprobación por parte de la Food and Drug Administration del Ramelteon, el primer agonista de alta afinidad de los receptores de melatonina MT1 / MT2 [1], [5]. Los beneficios sobre el sueño de este fármaco fueron comprobados en pacientes con insomnio primario y en voluntarios sanos con insomnio inducido [6].

En este artículo vamos a ver las diferencias de este medicamento con la melatonina natural, las técnicas SAR empleadas para su desarrollo y las ventajas que proporciona a los pacientes con insomnio. Pero también veremos los aspectos que se siguen investigando para mejorar el tratamiento.

2. RAMELTEON

2.1. Estructura química

Ramelteon (Rozerem®; TAK-375, Takeda Pharmaceutical Co, Osaka, Japón) es un análogo tricíclico y sintético de melatonina con nombre químico (S)-N-[2-(1,6,7,8-tetrahidro-2H-indeno-[5,4-b]furano-8-il)etil] propionamida, con fórmula empírica $C_{16}H_{21}NO_2$ y con un peso molecular de 259,34 g/mol. Es muy poco soluble en agua y en tampones acuosos desde pH 3 a pH 11. Por el contrario, es soluble espontáneamente en etanol y dimetilsulfóxido. Es un compuesto quiral y se produce como el enantiómero "S". Difiere de la melatonina en que el anillo de indol ha sido reemplazado por un indano, el cual carece del grupo NH, lo que resultó ser irrelevante para la unión y activación del receptor. El grupo 5-metoxi de la melatonina ha sido encerrado en un anillo de dihidrofurano y el grupo amino ha sido acilado por un grupo propionilo, en lugar del grupo acetilo, más corto, que podemos encontrar en la molécula orgánica (figura 2) [1].

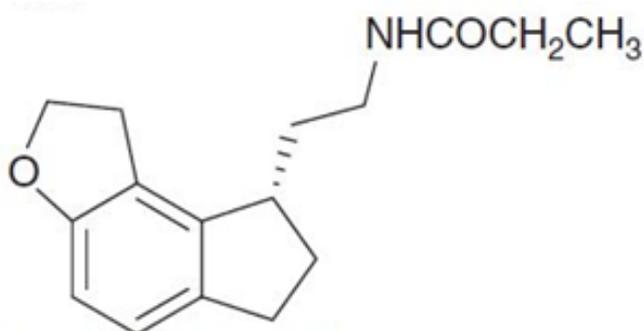


Figura 2. Estructura del Ramelteon. Tomada de [7]

2.2. Farmacodinámica

Ramelteon es un agonista potente y selectivo de los receptores de melatonina MT1-MT2 del núcleo supraquiasmático del hipotálamo. El receptor MT1 es el encargado de la conciliación del sueño y el MT2 de mantenerlo [5], [8]. Muestra una afinidad de unión de cuatro a seis veces ma-

yor para dichos receptores que la melatonina, mientras que tiene una afinidad muy baja para los demás, como el MT3 [1]. Se ha encontrado que la selectividad de ramelteon para MT1 es un poco mayor que para MT2, hecho del que se dedujo que el fármaco se dirige más específicamente al inicio del sueño. Además, se caracteriza por una notable estereoselectividad, teniendo su enantiómero (R) una afinidad de unión mucho menor [9], [5].

Como hemos visto, Ramelteon tiene una afinidad despreciable por los sitios de unión a MT3, pero también por otros receptores del cerebro, incluidos los receptores de opiáceos, dopamina, benzodiazepina y serotonina, lo que puede explicar la falta de eventos adversos significativos. En los ensayos clínicos, el medicamento fue generalmente bien tolerado; los eventos adversos notificados con más frecuencia fueron somnolencia, fatiga y mareos. Aun así, estos eventos fueron en su mayoría de naturaleza leve o moderada, por lo que se demostró que Ramelteon no tiene potencial de abuso o dependencia [10].

2.3. Farmacocinética

El fármaco Ramelteon es muy lipófilo cuando se compara con la melatonina, por lo que es más fácil de absorber y retener por los tejidos. El fármaco generalmente se administra por vía oral con una dosis de 8 mg, o 4 mg en sujetos de edad avanzada, y se absorbe rápidamente por el tracto gastrointestinal, con una tasa de absorción de alrededor del 84% en condiciones de ayuno. Se caracteriza por una vida media de 0,83-1,93 horas, que es de hecho más larga que la de la melatonina (20-30 minutos). Ramelteon experimenta un extenso metabolismo hepático por oxidación de grupos hidroxilo y carbonilo, y luego se conjuga con glucurónido. La isoenzima del citocromo P450 CYP1A2 es la principal enzima hepática involucrada en el metabolismo del medicamento, y el principal metabolito es un producto de la hidroxilación ω -1 en la cadena lateral de la propionamida. Aunque su actividad es 30 veces más baja que la del fármaco original, sus niveles séricos son de 20 a 100 veces más altos, lo que sugiere que puede contribuir significativamente al efecto clínico general [8], [5], [1].

3. SAR EN LOS AGONISTAS MELATONINÉRGICOS

Los ligandos del receptor de melatonina se probaron inicialmente en preparaciones tisulares que expresaban una población heterogénea de receptores. Por ese motivo se realizaron los primeros estudios de relación estructura-actividad (SAR) sin considerar las diferencias entre los receptores MT1 y MT2. Cuando estuvieron disponibles los receptores clonados, se probaron algunas viejas series de compuestos y se evaluaron algunos nuevos, evidenciando que la gran mayoría de los ligandos conocidos no eran selectivos para un subtipo de receptor en particular. Es por esto por lo que las investigaciones de SAR sobre los ligandos de receptores de melatonina estaban dirigidas tanto al descubrimiento de nuevas clases de sustancias químicas como a la definición de requisitos estructurales para la selectividad del subtipo. Las primeras clases

de agonistas se obtuvieron mediante la modulación de la estructura central de la melatonina y permitieron la definición de algunos modelos de SAR (figura 3) [6]

3.1. Estrategias para desarrollar agonistas de la melatonina

Durante las últimas décadas se han patentado e informado en la bibliografía una gran cantidad de agonistas de los receptores de melatonina de distintas clases. La estructura farmacológica que se encuentra en la mayoría de los agonistas de los receptores de melatonina está formada por un grupo amida unido a un núcleo aromático que tiene un grupo metoxi o un bioisótero. La introducción de sustitutos apropiados en la posición C2 del indol crea agonistas con una alta afinidad, aproximadamente 10 veces mayor que la propia melatonina. También fueron fructíferos otros cambios químicos, como el aumento de la longitud del grupo N acilo a 3 carbonos o la sustitución en la posición 6 del anillo indólico [6].

3.2. Modelos SAR que se llevaron a cabo

El efecto de la sustitución en el anillo indol de la melatonina se evaluó en todas las posiciones. El nitrógeno del indol en la posición 1 se puede unir a pequeños sustituyentes, como el metilo, con una reducción limitada de la afinidad de unión, mientras que los grupos más voluminosos provocan una disminución tanto de la afinidad de unión como de la actividad intrínseca de la molécula.

varias veces en derivados más recientes (figura 3). Esto puede considerarse como una forma de restricción conformacional, un enfoque que también se ha aplicado ampliamente a la cadena lateral de acilaminoetilo para establecer su conformación activa en los receptores de melatonina [6].

4. ASPECTOS A MEJORAR

Se ha demostrado que el mejor tratamiento es aquel que implica un fármaco selectivo para un receptor en concreto, por lo que Ramelteon, un fármaco selectivo para los receptores MT1 y MT2 pero que se une a cada uno casi con la misma afinidad, podría mejorarse.

Al establecer la eficacia de ligando y la selectividad, los investigadores deben tener en cuenta la observación de que la activación simultánea de ambos receptores de melatonina, MT 1 y MT 2, puede ser contraproducente. Aunque la unidad funcional mínima parece ser monomérica, se sabe por experimentos de transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia que los receptores MT 1 y MT 2 forman homo y heterooligómeros entre ellos y otros receptores acoplados a proteína G. Estos receptores pueden expresarse en las mismas células, lo cual podría dar lugar a aditivos u opuestos que amplifiquen o disminuyan su efecto entre sí [6].

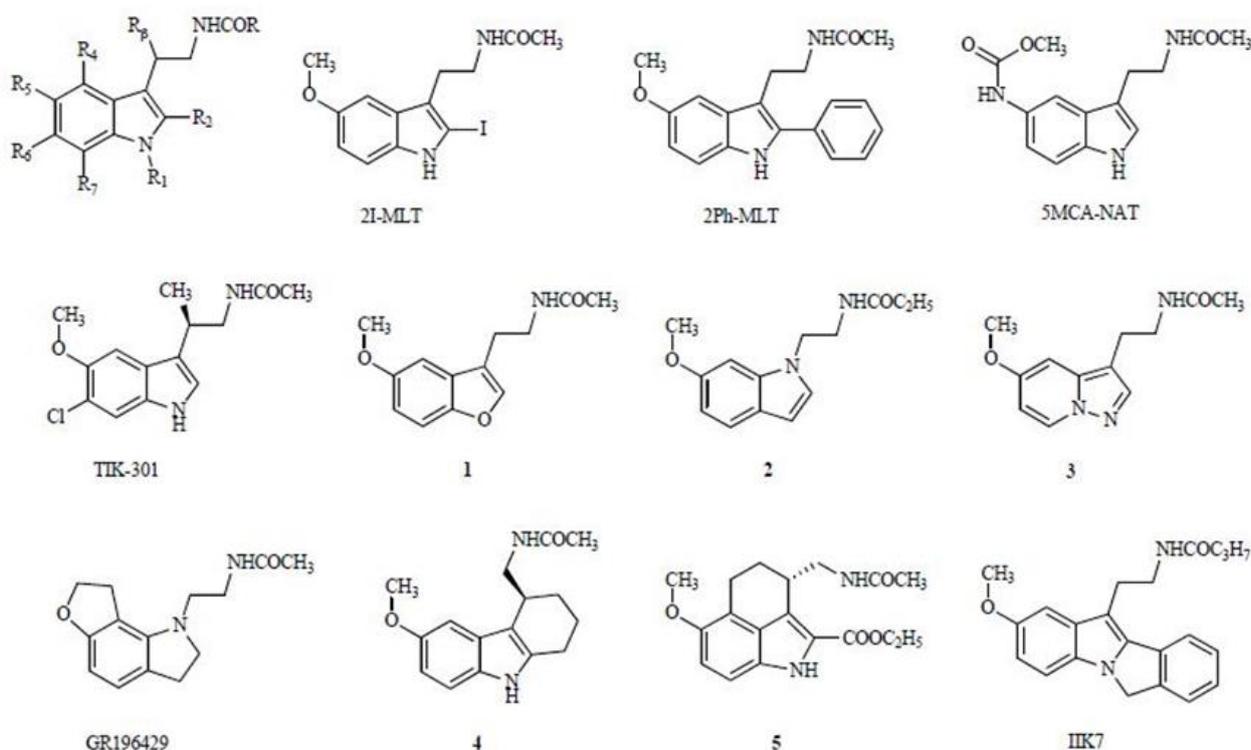


Figura 3. Isómeros y derivados de la melatonina. Tomada de [8]

El núcleo del indol del compuesto GR196429 puede estar parcialmente hidrogenado, como en el indano del Ramelteon, donde el grupo metoxi se inserta en un anillo de dihidrofurano, una modificación que se ha aplicado

Hay una carencia de ligandos selectivos eficaces del receptor MT1. Sin embargo, los investigadores han tenido éxito en encontrar ligandos de alta afinidad y selectivos para el receptor MT2. Estos son algunos ejemplos [6]:

- **Luzindole y 4P-PDOT:** Luzindole, un ligando no selectivo con una afinidad de 15 a 25 veces mayor por el receptor de melatonina MT₂, y 4P-PDOT, un ligando selectivo del receptor MT₂ con una afinidad de 300 a 1.500 veces mayor, se consideran los estándares de oro para la caracterización farmacológica de los receptores de melatonina. Luzindole y 4P-PDOT bloquean competitivamente los receptores de melatonina MT₁ a concentraciones de 300 nM o más, y ambos actúan como agonistas inversos en sistemas dotados de receptores MT₁ constitutivamente activos.
- **IJK7:** N-butanoil-2-(2-metoxi-6H-isoindol[2,1-a]indol-11-il)-etanamina (IJK7) es un agonista selectivo del receptor de melatonina MT₂ en receptores recombinantes MT₂ con una relación de afinidad de aproximadamente 90 cuando se compara con el receptor MT₁.

5. CONCLUSIONES

La evidencia clínica actualmente disponible para ramelteon indica que este fármaco posee muchas de las características "ideales" que deben cumplir los medicamentos destinados a tratar el trastorno del insomnio, por lo que es una opción de tratamiento importante para personas que padecen esta enfermedad, ya que no tiene efectos secundarios importantes, ni potencial de abuso, ni síndrome de abstinencia. Tiene un mecanismo de acción único que atenúa selectivamente una mala regulación del reloj circadiano, interactuando con los receptores de melatonina MT₁ y MT₂ en el núcleo supraquiasmático. Desde un punto de vista farmacocinético, el Ramelteon se absorbe fácilmente, pero sufre un extenso metabolismo oxidativo de primer paso.

Aunque es un buen tratamiento, aún queda mucha investigación pendiente para mejorar la selectividad de los análogos de la melatonina, y así, potenciar su efecto.

REFERENCIAS

- [1] Spadoni, G., Bedini, A., Lucarini, S., Mor, M., & Rivara, S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ramelteon: an insomnia therapy. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 11(7), 1145-1156, 2015
- [2] Ran Q, Chen J, Li C, Wen L, Yue F, Shu T, Mi J, Wang G, Zhang L, Gao D, Zhang D. Abnormal amplitude of low-frequency fluctuations associated with rapid-eye movement in chronic primary insomnia patients. *Oncotarget*. 8(49):84877-84888, 2017
- [3] Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci*. 71(16):2997-3025, 2014

- [4] Boutin JA, Audinot V, Ferry G, Delagrangre P. Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *Trends Pharmacol Sci*. 26(8):412-9, 2005
- [5] Carocci A, Catalano A, Sinicropi MS. Melatonergic drugs in development. *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*. 6:127-137, 2014.
- [6] Jiabei Liu, Shannon J. Clough, Anthony J. Hutchinson, Ekue B. Adamah-Biassi, Marina Popovska-Gorevski, and Margarita L. Dubocovich. MT₁ and MT₂ Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective. *Annual review of pharmacology and toxicology* 56: 361-383, 2016.
- [7] Owen RT. Ramelteon: profile of a new sleep-promoting medication. *Drugs Today*. 42 (4): 255-63, 2006
- [8] Rivara, S., Mor, M., Bedini, A., Spadoni, G., & Tarzia, G. Melatonin receptor agonists: SAR and applications to the treatment of sleep-wake disorders. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 8(11), 954-68, 2008
- [9] Kato, K., Hirai, K., Nishiyama, K., Uchikawa, O., Fukatsu, K., Ohkawa, S., Miyamoto, M. Neurochemical properties of ramelteon (TAK-375), a selective MT₁/MT₂receptor agonist. *Neuropharmacology*, 48 (2), 301-310, 2005
- [10] McGechan A, Wellington K. Ramelteon. *CNS Drugs*. 19 (12):1057-65, 2005



Beatriz Aguilar Gómez, estudiante del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

¿Se puede potenciar la acción de un fármaco controlando la hora de su administración?

Rafael Barrero Rodríguez

Resumen—Los procesos fisiológicos que tienen lugar en los mamíferos están sujetos a oscilaciones como consecuencia de los Ritmos Circadianos. No es de extrañar que procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos también estén sometidos a notables variaciones debidas a estos ritmos. Este hecho resulta bastante relevante, pues nos conduce a la idea de que en función del momento del día en el que se administre un fármaco, sus efectos en el organismo pueden ser distintos.

Palabras Claves—Ciclofosfamida, Circadianos, Cronofarmacología, Cronoterapia, Quimioterapia.



1. INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de vivir en un planeta que presenta períodos alternados de luz y oscuridad, los organismos han ajustado sus procesos fisiológicos para adaptarse de la mejor forma posible a estas variaciones. Las oscilaciones diarias que se producen en el desarrollo de los procesos fisiológicos se conocen con el nombre de Ritmos Circadianos.

Se sabe que los Ritmos Circadianos son cruciales para la correcta sincronización de los procesos metabólicos, fisiológicos y de comportamiento en el interior del organismo, y entre el organismo y su entorno. De hecho, la alteración de los Ritmos Circadianos conduce a patologías y desórdenes de distinto tipo (metabólicos, cardiovasculares, depresiones...)[1].

Esta fuerte influencia de los Ritmos Circadianos en el organismo se puede aprovechar para optimizar el uso de fármacos, aplicándolos en el momento del día en el cual su acción sobre la diana de interés sea óptima, y sus efectos secundarios sean mínimos. Esto es especialmente importante en enfermedades como el Cáncer, donde la dosis quimioterapéutica debe ser lo suficientemente alta para afectar a las células tumorales, y al mismo tiempo lo suficientemente baja para evitar daños en los tejidos y órganos sanos. En estos casos, donde los márgenes de acción son tan estrechos, las variaciones introducidas por los Ritmos Circadianos pueden ser cruciales para la vida del paciente.

En este artículo explicaremos en qué consisten los Ritmos Circadianos, cuál es su influencia en procesos farmacocinéticos, y su posible aplicación en el tratamiento de enfermedades.

2. BASE MOLECULAR DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

A nivel celular, el control de los Ritmos Circadianos consta de procesos de retroalimentación negativa (“nega-

tive feedback”) al nivel de la transcripción y traducción. De este modo, la activación de un gen represor lleva a la síntesis de una proteína que reprimirá su propia expresión; dada la inestabilidad de esta proteína, la represión desaparecerá pudiéndose iniciar un nuevo ciclo.

En mamíferos, los principales activadores de este sistema son las proteínas CLOCK y BMAL1, que dimerizan y activan la transcripción de un gran número de genes circadianos. Entre estos genes encontramos aquellos que codifican la familia de proteínas represoras PERIOD (PER1-3) y CRYPTOCHROME (CRY1-2). Estas proteínas multimerizan e inactivan el complejo CLOCK:BMAL1, reprimiendo, por tanto, su propia expresión (“negative feedback”). Otras proteínas de especial relevancia, cuya expresión es activada por CLOCK:BMAL1, son REV-ERB y ROR, que compiten para unirse al promotor del gen *Bmal1* para reprimir y activar su transcripción respectivamente [2].

Los estímulos ambientales influyen en el mantenimiento de este ciclo de 24 horas y contribuyen a reajustar el reloj interno. Esto se consigue gracias al Núcleo Supraquiasmático, en el Hipotálamo, que recibe información sobre la luz del día vía Retina, y transmite las señales pertinentes a las células de los diferentes tejidos a través del Sistema Nervioso Autónomo o a través de hormonas [3].

3. RITMOS CIRCADIANOS Y FARMACOCINÉTICA

Existen numerosos estudios que muestran cómo los Ritmos Circadianos influyen en procesos farmacocinéticos relacionados con la absorción, biodisponibilidad, distribución y excreción del fármaco [4].

3.1. Absorción gástrica e intestinal

El transporte y la difusión de fármacos dependen considerablemente del pH gástrico, pues este influye en la ionización e hidrofobicidad del principio activo. Se ha observado que el pH gástrico oscila en función de los Ritmos Circadianos, influyendo por lo tanto en la solubi-

lidad del fármaco [5]. A esto cabe añadir que la movilidad gastrointestinal es mayor durante el día que durante la noche, lo que hace que la tasa de absorción se incremente durante el día.

3.2. Metabolismo hepático del fármaco

El procesamiento de un fármaco en el hígado está organizado en varios pasos en los que participan tres grupos de proteínas con diferente función. Así, las proteínas de la fase I incluyen enzimas implicadas en la funcionalización del fármaco (inactivación o activación en caso de un profármaco). Las proteínas de la fase II conjugan el fármaco a moléculas hidrofílicas, para aumentar su solubilidad. Finalmente, las proteínas de la fase III son transportadores que movilizan el fármaco al exterior de la célula. Pero, ¿Cómo se relaciona todo esto con los Ritmos Circadianos?

Parece ser que existe una relación, pues se ha observado que la expresión de genes que codifican proteínas implicadas en las tres fases varía en función de los Ritmos Circadianos (Fig. 1). Esto indica que existe una importante oscilación en la actividad del hígado a lo largo del día [6].

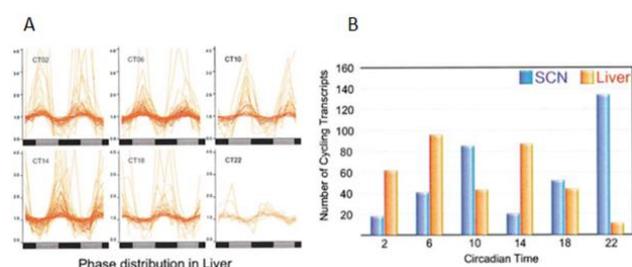


Fig. 1. Expresión de genes en el hígado de ratones en función de los Ritmos Circadianos. A) Se mide cómo varía la expresión de 335 genes en el hígado a lo largo de seis fases circadianas (CT 2, 6, 10, 14, 18 y 22). B) Se mide el número de transcritos de expresión cíclica en el hígado y el Núcleo Supraquiasmático a lo largo de las seis fases circadianas mencionadas. Imagen extraída de la referencia [6]

3.3. Eliminación a través del Sistema Hepatobiliar

El sistema de transporte hepatobiliar es requerido, además de para la formación de la bilis, para la eliminación de diferentes compuestos, como los xenobióticos, el colesterol o los fármacos.

La excreción de estos compuestos por esta vía está sujeta a los Ritmos Circadianos. Así, no solo se ha observado que la síntesis de ácidos biliares obedece a un ritmo diurno, sino que la mayoría de los genes que codifican transporters implicados en la secreción de bilis se expresan siguiendo un patrón circadiano [6].

Se realizó un experimento con dos grupos de ratas [7], a los que se le administraba Ampicilina a diferente hora del día (12:00 y 24:00). Se observó que la tasa de excreción biliar era considerablemente mayor en uno de los grupos (24:00), y que cuanto mayor fuese la cantidad de Ampici-

lina en el plasma, mayor era la diferencia entre ambos (Fig. 2).

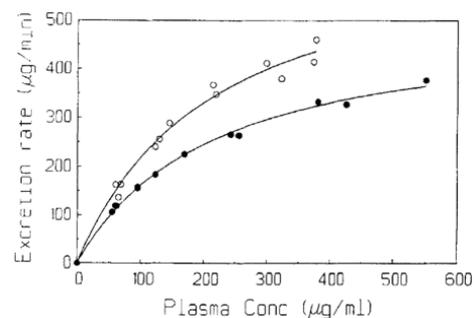


Fig. 2. Variación de la tasa de excreción biliar de ampicilina en función de su concentración en el plasma, en dos grupos de ratas (● Administración a las 12:00 ○ Administración a las 24:00) Imagen extraída de [7]

3.4. Eliminación a través de los Riñones

La mayoría de los fármacos (o sus metabolitos) solubles en agua se eliminan en la orina a través de los riñones. La tasa de eliminación de orina depende de factores como el flujo renal de sangre, la tasa de filtración glomerular o la capacidad de los riñones para reabsorber o secretar el fármaco.

Todas estas variables presentan oscilaciones que obedecen a los Ritmos Circadianos, como demuestran experimentos llevados a cabo con personas [8] (Fig.3).

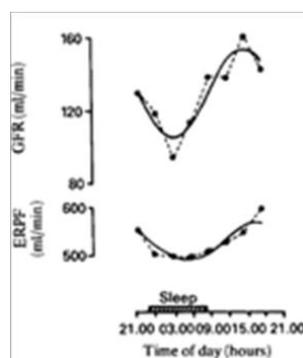


Fig. 3. Variación de la tasa de filtración glomerular (GFR) y flujo renal del plasma (ERPF) a lo largo del día. Ambos adquieren valores elevados durante la fase diurna y se reducen en la fase nocturna. Imagen tomada de la referencia [8]

4. LA CRONOBIOLOGÍA Y EL USO DE FÁRMACOS: EXPERIMENTOS CON CICLOFOSFAMIDA

¿Cuál es la utilidad de toda la información expuesta hasta ahora? Como mencionamos al principio del artículo, es posible utilizar el conocimiento en cronobiología para optimizar las terapias que se aplican a la hora de combatir distintas enfermedades. Así, varios experimentos llevados a cabo en roedores, han mostrado que la eficacia de terapias anticancerosas puede llegar a ser hasta 10 veces mayor dependiendo del momento del día en el que se apliquen. Los experimentos realizados con Ciclofosfamida, un antitumoral, son muy ilustrativos al respecto [9].

Se observó que el Índice Terapéutico ($IT = DL_{50}/DE_{50}$) de la Ciclofosfamida, podía aumentar considerablemente en función del momento en el que se administrara el fármaco. En un experimento, se administró a ratones una dosis máxima tolerada de Ciclofosfamida a distintas horas del día. Se observó que en función de la hora de la administración la tasa de supervivencia variaba considerablemente (Fig. 4A). También se podía observar diferencias en dosis que no resultaban mortales. En función del momento de administración, los ratones perdían más o menos peso (Fig. 4B).

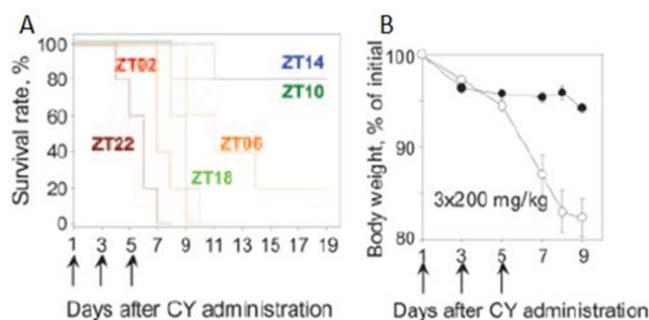


Fig. 4. Influencia del tiempo de tratamiento con Ciclofosfamida en ratones. A) Cuando la administración tenía lugar a ZT14 la tasa de supervivencia era considerablemente mayor que cuando tenía lugar a ZT22. B) La administración a ZT2 (○) causa mayor pérdida de peso que a ZT14 (●). Imagen extraída de [9].

En la misma línea, experimentos realizados con mutantes *Clock/Clock* y *Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}* mostraron que una baja cantidad del complejo CLOCK:BMAL1 (*Clock/Clock*) se relaciona con mayor susceptibilidad a la Ciclofosfamida (Fig. 5A), mientras que una mayor cantidad del complejo (*Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}*), se relaciona con una mayor resistencia (Fig. 5B).

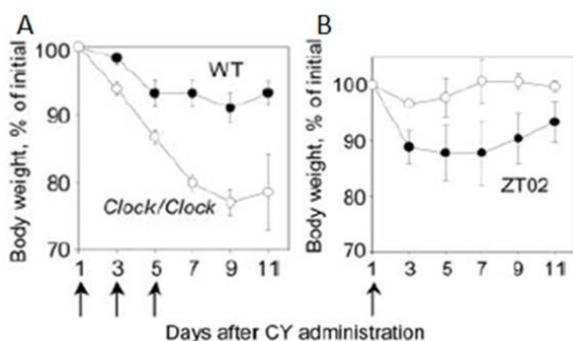


Fig. 5. Efecto de la Ciclofosfamida en el peso de Wild Type (●) y de mutantes (○). A) Se emplea mutante *Clock/Clock*. B) Se emplea mutante *Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}*. Imagen extraída de [9].

Se sabe que el tratamiento con Ciclofosfamida es perjudicial para el Sistema Hematopoiético, por eso su dosis terapéutica debe ser controlada. Resulta sorprendente el hecho de que el estado funcional del complejo CLOCK:BMAL1, que controla los Ritmos Circadianos, modula la sensibilidad de las células hematopoiéticas, de modo que una baja cantidad del complejo (*Clock/Clock*)

aumenta la susceptibilidad, mientras que una alta cantidad (*Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}*) la reduce (Fig. 6).

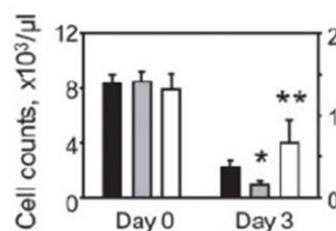


Fig. 6. Sensibilidad de las células hematopoiéticas en Wild Type (negro), *Clock/Clock* (gris) y *Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}* (blanco). Imagen extraída de [9].

Los distintos experimentos con Ciclofosfamida desarrollados en ratones, son un perfecto ejemplo de cómo los Ritmos Circadianos pueden influir notablemente en los efectos de un fármaco. Dependiendo de la hora de la administración, el organismo será más o menos susceptible, por lo que la intensidad de los efectos secundarios y, en definitiva, la efectividad del fármaco, podrán variar considerablemente.

5. CONCLUSIÓN

Los Ritmos Circadianos tienen una gran influencia en los procesos fisiológicos que suceden en el organismo. Por lo tanto, no es sorprendente el hecho de que también jueguen un importante papel en los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos, como hemos visto. Este hecho se puede aprovechar para optimizar el uso de los fármacos, administrándolos en el momento del día en el que sus efectos son lo más beneficioso posible. No obstante, para sacar el máximo provecho a las oscilaciones circadianas en enfermedades como el cáncer, no solo hay que entender cómo se regulan los Ritmos Circadianos en las células sanas, sino también en las propias células tumorales. Es en esta dirección donde deben orientarse futuras investigaciones, pues solo de este modo se podrá establecer el momento idóneo del día para la administración de un fármaco.

REFERENCIAS

- [1] M. Young, G. Editor, M. P. Antoch, and R. V Kondratov, "Circadian Proteins and Genotoxic Stress Response," *Circ. Res.*, vol. 106, no. 1, pp. 68–79, Jan 2010, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.207076.
- [2] S. Langmesser, T. Tallone, A. Bordon, S. Rusconi, and U. Albrecht, "Interaction of circadian clock proteins PER2 and CRY with BMAL1 and CLOCK," *BioMed Cent.*, vol. 1, p. 42, Apr 2008, doi: 10.1186/1471-2199-9-41.
- [3] O. Westermark, M. Heine, A. Kramer, and H. Herzel, "Coupling governs entrainment range of circadian clocks," *Mol. Syst. Biol.*, vol. 6, no. 438, pp. 1–13, Nov 2010,

doi:10.1038/msb.2010.92.

- [4] R. Dallmann, S. A. Brown, and F. Gachon, "Europe PMC Funders Group Chronopharmacology : New Insights and Therapeutic Implications," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 54, no. 1, pp. 1–25, Jan 2014, doi:10.1146/annurev-pharmtox-011613-135923.
- [5] J. G. Moore and E. Engler Jun., "Circadian Rhythm of Gastric Acid Secretion in Man," *Nature*, vol. 226, pp. 1261–1262, Jun. 1970, doi:10.1038/2261261a0.
- [6] S. Panda, M. P. Antoch, B. H. Miller, A. I. Su, A. B. Schook, M. Straume, P. G. Schultz, S. A. Kay, J. S. Takahashi, J. B. Hogenesch, and S. Diego, "Coordinated Transcription of Key Pathways in the Mouse by the Circadian Clock," *Cell*, vol. 109, pp. 307–320, May 2002, doi: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00722-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00722-5).
- [7] B. Mesnard-ricci and C. A. White, "Chronokinetics of Active Biliary Ampicillin Secretion in Rats," *J. Biol. Med. Rhythm Res. ISSN*, vol. 15(4), no. 4, pp. 309–321, May 1998, doi: 10.3109/07420529808998692.
- [8] L. Ansz, "Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals," *Clin. Sci.*, vol. 77, pp. 105–111, Jul 1989, doi: 10.1042/cs0770105.
- [9] V. Y. Gorbacheva, R. V Kondratov, R. Zhang, S. Cherukuri, A. V Gudkov, J. S. Takahashi, and M. P. Antoch, "Circadian sensitivity to the chemotherapeutic agent cyclophosphamide depends on the functional status of the CLOCK BMAL1 transactivation complex," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 102, no. 9, pp. 3407–3412, Mar 2005, doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0409897102>.



Rafael Barrero Rodríguez. Estudiante de Biotecnología, Universidad Pablo de Olavide.

Trastuzumab: inmunoterapia contra el cáncer

Almudena Neva Alejo, Carmen Rocío Gómez Navarro y Marta Pulido Sánchez

Resumen— Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado usado en el tratamiento contra el cáncer, actuando contra el receptor de membrana HER2, sobreexpresado en varios tipos de neoplasia. Un elevado porcentaje de pacientes tratados con este antitumoral, desarrollan resistencia temprana al tratamiento asociada al receptor HER3, por lo que el uso complementario de un anticuerpo contra HER3 podría suprimirla. La maitansina, el fármaco usado tradicionalmente, presenta una excelente actividad antimicrotubular pero no es lo suficientemente específico; por lo tanto, un tratamiento combinado con el trastuzumab (T-DM1) mejoraría el pronóstico de los pacientes.

Palabras Claves— Trastuzumab, Anticuerpo monoclonal, Cáncer, HER2, HER3, Maitansina, T-DM1.

1. INTRODUCCIÓN

La disregulación de la división en células normales del organismo, puede dar lugar a esos cúmulos celulares que conocemos como tumores. Cuando un tumor se vuelve maligno, tiene la capacidad de invadir otros tejidos, generalmente a través del sistema circulatorio, y se convierte en un cáncer metastásico. Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo [1]. Solo en España, se prevén 246.713 casos de cáncer para 2020, un 12,64% más que en 2012 [2]. La batalla contra el cáncer es, por tanto, una carrera a contrarreloj cuyo tratamiento se ha basado en la radioterapia desde principios de siglo, y en fármacos químicos desde los años 40.

Sin embargo, los avances en biología molecular e ingeniería de proteínas de los últimos años, han puesto una nueva herramienta a disposición de la medicina oncológica: el uso de anticuerpos monoclonales para frenar la proliferación de células cancerosas. Los anticuerpos monoclonales se definen como “inmunoglobulinas diseñadas para actuar sobre blancos terapéuticos definidos, con el fin de detener un proceso patogénico específico, o estimular una acción celular o incluso desviar un mecanismo celular hacia otra vía” [3]. Además se pueden modificar anticuerpos monoclonales para que transporten toxinas a la célula de interés, aumentando así sus efectos citotóxicos [4].

En este artículo nos centraremos en el uso terapéutico de un anticuerpo, trastuzumab, que actúa contra la proteína HER2 que se sobreexpresa en la membrana de células tumorales en ciertos tipos de cáncer, como el gástrico, el de ovario y el de mama; siendo este último de especial interés, ya que este marcador está directamente relacionado con un peor diagnóstico en los pacientes que lo presentan [3].

2. TRASTUZUMAB: UN ANTICUERPO HUMANIZADO CONTRA EL CÁNCER

Trastuzumab es una anticuerpo monoclonal anti-HER2

humanizado (la inmunoglobulina es de origen humano, con excepción de la región complementaria variable, cuyo origen es murino) usado principalmente para el tratamiento de los cánceres de mama HER2-positivo [5]. Fue el primer anticuerpo monoclonal que se aprobó para tratar tumores sólidos. Respecto a la farmacocinética de trastuzumab, podemos decir que presenta un tiempo de vida media de 5,8 días.

Se han observado diversas reacciones adversas como dolor, fiebre, diarrea, anorexia, cansancio, dolor lumbar, faringitis, edemas, taquicardia, arritmias, hipertensión, depresión, reacciones alérgicas, etc. Además su exposición durante el embarazo puede conllevar a una hipoplasia pulmonar, malformaciones o muerte neonatal.

2.1. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción está relacionado con la capacidad que posee este anticuerpo monoclonal para unirse a un dominio extracelular del Receptor de Factor de Crecimiento Epidérmico, HER2, mediando así la citotoxicidad dependiente de anticuerpos, inhibiendo la proliferación de células que sobreexpresan la proteína HER2 [3].

Tras unirse al receptor HER2 inhibe la formación de heterodímeros HER2, inactivando la cascada de señalización que promueve la proliferación y metástasis de las células cancerígenas. HER2 es un factor de crecimiento epidérmico transmembranal humano sobreexpresado 100 veces más en el 20-30% de los cánceres de este tipo [6]. Contribuye a la proliferación tumoral, adhesión, migración, diferenciación y apoptosis. Además está sobreexpresado en un 20% de los tumores gástricos y en algunos cánceres de ovario [7].

2.2. Resistencia al medicamento

Aunque trastuzumab ha traído consigo muchos beneficios clínicos, más del 62% de los pacientes tratados adquieren resistencia durante el primer año, provocando fallos significativos durante los ensayos clínicos [5]. Se ha observado que el factor de crecimiento epidérmico humano HER3 es responsable de esta resistencia a trastuzumab. Este factor a su vez es dependiente de la actividad de la proteína de adhesión celular, NRG1.

HER3 es una quinasa activadora de los receptores de

quinasa HER1, HER2 y HER4, formando heterodímeros. Junto con HER2, forma dímeros que promueven el cáncer, por lo que es tan importante como HER2 a la hora de inducir la proliferación de células tumorales. Por su parte NRG1 actúa como un ligando de HER3 y favorece la interacción de HER2/HER3.

Se ha demostrado que NRG1/HER3 promueven la proliferación celular de forma autocrina y paracrina en cáncer de ovario y colon. La actividad de HER3 depende de NRG1 y viceversa.

El uso del anticuerpo monoclonal HER3 combinado con trastuzumab podría ser una alternativa para aquellos pacientes que adquieran resistencia a trastuzumab, inhibiendo la activación de NRG1 dependiente de HER3 [6].

3. MAITANSINA: LAS DESVENTAJAS DE UN ANTITUMORAL QUÍMICO

La maitansina es un compuesto muy potente dirigido a los microtúbulos citoesqueléticos, induciendo la detención mitótica, pudiendo ser usado para matar células tumorales [8]. Se une a la tubulina, inhibiendo así el ensamblaje de los microtúbulos y alterando la mitosis [9].

Sin embargo provoca efectos secundarios y carece de especificidad tumoral, pudiendo atacar a células sanas. De ahí que se hayan desarrollado medicamentos que conjugan derivados de la maitansina y anticuerpos para superar estos inconvenientes [8].

4. ADO-TRASTUZUMAB EMTANSINE: AGENTE ANTIMICROTUBULAR DIRIGIDO

Ado-trastuzumab emtansine (T-DM1) es un anticuerpo, que se obtiene por combinación, mediante enlace tioéter, de dos medicamentos: el DM1, un agente citotóxico derivado de la maitansina, que actúa contra los microtúbulos, y trastuzumab.

T-DM1 transporta específicamente a DM1 hacia HER2 (figura 1), el cual se encuentra sobreexpresado en las células tumorales; a su vez se da la respuesta causada por el propio trastuzumab, induciendo la respuesta citotóxica dependiente de anticuerpo, inhibiendo la señalización celular de la ruta del fosfatidilinositol-3-quinasa/AKT e inhibiendo la renovación de HER2.

Se demostró que los pacientes con cáncer de mama metastásico HER2-positivo tratados con T-DM1 sobrevivían más que aquellos solamente tratados con trastuzumab. Además fue aprobado por la US Food and Drug Administration para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama HER2-positivo, que hayan recibido previamente trastuzumab y un taxano de forma combinada o separada [10].

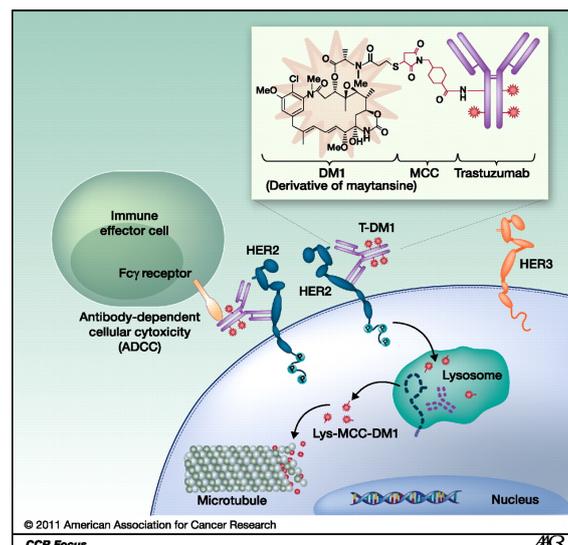


Fig. 1. Estructura y mecanismo de acción de T-DM1. Cuando el complejo T-DM1 se une a HER2, entra a la célula vía invaginación, seguido de una degradación lisosomal. Este proceso acaba con la liberación de DM1, que se une a la tubulina y evita su polimerización. Por otra parte, se ha demostrado que el complejo T-DM1 también media la respuesta citotóxica dependiente de anticuerpo [11].

5. CONCLUSIONES

La investigación básica en ciencia es crucial a la hora de desarrollar nuevos fármacos en la batalla contra el cáncer. Si no conociéramos los mecanismos moleculares que llevan a una célula a volverse tumoral, hoy en día seguiríamos sin entender el cáncer. Lo mismo ocurre con el conocimiento acerca de nuestro sistema inmunitario, y este artículo es un ejemplo más de ello.

Aún queda mucho por hacer en el campo de la oncología, pero esta nueva generación de medicamentos quimioterapéuticos basados en anticuerpos son realmente esperanzadores para los pacientes cuyo pronóstico no mejora con medicación basada en compuestos químicos inespecíficos.

Esta inmunoterapia no excluye a la quimioterapia tradicional, sino que combinadas se complementan y son más efectivas, como hemos visto con el ejemplo de T-DM1.

REFERENCIAS

- [1] Web de la Organización Mundial de la Salud, "Cáncer", nota descriptiva, (2017). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es>
- [2] Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), "Las cifras del cáncer en España 2016", https://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESP_2016.pdf
- [3] Machado-Alba J.E., "Los medicamentos de origen biotecnológico, el futuro comienza ahora", *Anales de la Real Academia de Farmacia*; 80(1):49-90, 2014
- [4] Edward H. Romond, Edith A. Perez et al, "Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer", *The New England Journal of Medicine*; 353:1673-1684, Oct 2005, doi:10.1056/NEJMoa052122.
- [5] Su F., Geng J. et al, "SP1 promotes tumor angiogenesis and invasion by activating VEGF expression in an acquired trastuzumab-resistant ovarian cancer model", *Oncology Reports*;

- 38(5):2677-2684, Nov 2017, doi:10.3892/or.2017.5998.
- [6] Liuting Yang, Yingying Li et al, "NRG1-dependent activation of HER3 induces primary resistance to trastuzumab in HER2-overexpressing breast cancer cells", *International Journal of Oncology*; 51:1533-1562, 2017, doi:10.3892/ijo.2017.4130.
- [7] Tooshihiko Doi, Kohei Shitara et al, "Safety, pharmacokinetics, and antitumour activity of trastuzumab deruxtecan (DS-8201), a HER2-targeting antibody-drug conjugate, in patients with advanced breast and gastric or gastro-oesophageal tumours: a phase 1 dose-escalation study", *The Lancet Oncology*; 18(11):1512-1522, Nov 2017, doi:10.1016/S1470-2045(17)30604-6.
- [8] Manu Lopus, Emin Oroudjev et al, "Maytansine and celular metabolites of antibody-maytansinoid conjugates strongly suppress microtubule dynamics by biding to microtubules", *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(10):2689-2699, Oct 2010, doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0644.
- [9] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database, CID=5281828, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281828> (accessed Nov. 5, 2017)
- [10] Shang-Chiung Chen, Matts Kagedal et al, "Population pharmacokinetics of trastuzumab emtansine in previously treated patients with HER2-positive advanced gastric cancer (AGC)", *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, Oct 2017, doi: 10.1007/s00280-017-3443-1.
- [11] Patricia M. LoRusso, Denise Weiss et al, "Trastuzumab Emtansine: A Unique Antibody-Drug Conjugate in Development for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Cancer", *Clinical Cancer Research*; 17(20); 6437-47, Oct 2011, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0762.



Almudena Neva Alejo, Carmen Rocío Gómez Navarro, Marta Pulido Sánchez son estudiantes de 4º curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Efectos de los medicamentos en el medio ambiente

Elena Torelló Fernández

Resumen— El consumo excesivo de medicamentos y las características químicas de los mismo tienen diversos efectos en los seres humanos. La ciencia que estudia estos efectos es la farmacovigilancia. Sin embargo, en los últimos años ha surgido una disciplina emergente, llamada Ecofarmacovigilancia, que estudia los efectos que los fármacos que llegan al medioambiente tienen sobre las personas y los animales. Existen diversas vías de entrada de estos compuestos químicos al medio ambiente, así como numerosas especies afectadas. No obstante aun queda mucho por investigar.

Palabras Claves— Ecofarmacovigilancia, efectos toxicos, medio ambiente, fármaco.



1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha incrementado el consumo de medicamentos sobre todo en los países desarrollados. Este consumo excesivo está relacionado con el aumento de los desechos de estos compuestos químicos, los cuales, terminan en el medioambiente en el cual sufren varias reacciones químicas y biológicas por lo que son transformados y pueden obtenerse subproductos más tóxicos que los compuestos padres.

Debido al aumento de la presencia de fármacos en el medio ambiente, surge el concepto de ecofarmacovigilancia que es la ciencia que estudia los efectos que tienen los fármacos que terminan en el medioambiente en los seres humanos y animales.

Existen numerosos estudios que demuestran que estos compuestos químicos pueden afectar a distintas especies. Los esteroides pueden afectar a la reproducción y al comportamiento sexual mediante la feminización de peces machos, con la consiguiente disminución de dichas especies.

Los AINEs y particularmente el diclofenaco, provoca en los buitres un cuadro de insuficiencia

renal con desenlace mortal, lo que ha comportado prácticamente la extinción de la población en determinados lugares.

Por otro lado, los antidepresivos ISRS, como fluoxetina muestran una afectación preferente por diversas especies acuáticas.

2. ¿QUÉ ES LA ECOFARMACOVIGILANCIA?

La ecofarmacovigilancia es una rama de la farmacovigilancia (ciencia que estudia los efectos de los medicamentos en los seres humanos que consumen dichos medicamentos) que estudia la entrada y efectos adversos de los PAF en el medio ambiente tras ser utilizados por los humanos o animales [1].

A diferencia de la Farmacovigilancia cuyo estudio empieza con la vigilancia después de comercializar los medicamentos, la Ecofarmacovigilancia comienza desde la producción del medicamento hasta la eliminación de los mismos [2].

3. CICLO DE VIDA DE LOS MEDICAMENTOS Y LAS VIAS DE ENTRADA EN EL MEDIOAMBIENTE

Los humanos utilizamos medicamentos diariamente y liberamos estas sustancias químicas al medio ambiente.

El ciclo de vida básico de un medicamento consta de varias etapas como se ilustra en la figura. (**Figura 1**)



Figura 1. Fases del ciclo de vida [3].

Los medicamentos en el medio ambiente se transforman y se transfieren entre los diferentes compartimientos. La concentración de medicamentos depende de la localización geográfica, las prácticas de la administración local, la estacionalidad y los factores ambientales específicos [3].

Los PAF llegan al medio ambiente por diferentes rutas. (desecho inadecuado, orina, heces, etc).

Muchos PAF no son eliminados totalmente por las plantas de tratamiento. La liberación de las aguas residuales sin tratar o posibles eventos de desbordamiento, tienen como consecuencia la liberación de los PAF a los ríos. Los PAF pueden llegar a filtrarse en las aguas subterráneas las cuales son suministros de agua potable. Por lo tanto, los PAF pueden ser 'reciclados' de forma

involuntaria en los seres humanos a través del agua potable. Durante el tratamiento de aguas residuales, muchos PAF son asociados con el lodo de aguas residuales, cuyas concentraciones son mucho más altas que en las aguas tratadas. Este lodo se aplica a menudo a tierras de cultivo agrícola por lo que estos cultivos pueden llegar a absorber los PAF, existiendo la posibilidad de exponer involuntariamente a los humanos que consumen dichos alimentos [4].

Además, ciertos medicamentos son muy solubles en lípidos pudiendo acumularse en los tejidos grasos de animales y de este modo se pueden introducir en la cadena alimentaría [3].

4. CONSECUENCIAS E IMPACTO MEDIOAMBIENTAL ASOCIADO A LOS MEDICAMENTOS

La exposición de PAF en agua y suelos puede contribuir a:

- 1) La extinción de especies y desequilibrio en los ecosistema más sensibles. Muchos de los fármacos y sus metabolitos afectan a los sistemas reproductivos de algunas especies acuáticas [5] o provocan insuficiencia renal con desenlace mortal en buitres [6]. Todo esto conlleva a la reducción de especies lo cual puede desequilibrar ecosistemas y afectar a otras muchas especies, ya que cada animal tiene su función en la escala trófica.
- 2) Consecuencias genéticas, inmunológicas y hormonales. Tanto en los seres humanos como en especies animales, se ha detectado que la presencia de hormonas sexuales en el agua ha llegado a provocar la feminización de peces machos [7], así como la disminución en el recuento de espermatozoides de algunos hombres [8].
- 3) Desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos.

Debido a la presencia de antibióticos en aguas superficiales y suelos, ciertos microbios ambientales no patógenos que se encuentran en el medio ambiente pueden volverse resistentes y por medio de ciertas condiciones logran entrar en los animales o en los humanos [9][10].

Las poblaciones más vulnerables (mujeres embarazadas, niños, etc) pueden tener un mayor riesgo a la exposición de los PAF.

En cuanto a la seguridad alimentaria, este supone un gran problema ya que los residuos de medicamentos se introducen en la cadena alimentaria. Esto puede llegar a producir una colonización del tubo digestivo humano por bacterias resistentes a ciertos antibióticos [11].

5. ESTUDIOS DE ECOFARMACOVIGILANCIA

La presencia de concentraciones de fármacos en el medio ambiente (aguas subterráneas, aguas superficiales y sedimentos) se ha objetivado en un amplio número de estudios internacionales y nacionales mediante métodos analíticos y equipos de detección precisos y sensibles.

No obstante existen importantes limitaciones metodológicas en la realización de los estudios de ecotoxicidad, derivadas tanto de la escasa utilización de estándares cualitativos de referencia, como de la escasa realización estudios de seguimiento y control; así como, relacionadas con la incertidumbre para establecer una relación de causalidad entre las concentraciones de fármacos en el medio ambiente y los efectos nocivos observados.

5.1. Principales fármacos implicados

Tras numerosos estudios se puede objetivar que los principales fármacos o grupos terapéuticos en los que se ha demostrado de forma específica sus efectos nocivos para el medio ambiente son los medicamentos hormonales como los esteroides y particularmente los estrógenos (etinilestradiol), los antiinflamatorios no esteroideos (diclofenaco), los antibióticos (tetraciclinas, macrólidos), los antidepresivos (fluoxetina), los citotóxicos o antineoplásicos v los antiparasitarios (ivermectina).

5.2. Principales especies afectadas

Mientras que las principales especies afectadas en las que se ha demostrado de forma específica los efectos nocivos de los medicamentos presentes en el medio ambiente son los peces o animales acuáticos y los buitres.

5.5. Principales efectos

Los efectos nocivos predominantes que se han observado son las alteraciones del proceso reproductivo y comportamiento sexual mediante la feminización de peces machos y disminución de la reproducción; así como, la insuficiencia renal con desenlace mortal en los buitres, con el consiguiente riesgo de extinción de la especie en algunos países. Este último ha llegado a ser un grave problema a principios de la década de 1990, ya que, los buitres (p.e. *Gyps bengalensis*) experimentaron una disminución dramática de la población (95%) en el sur de Asia, en particular la India y se extendió a Pakistán y Nepal [12]. El declive de las poblaciones de buitres en el subcontinente indio fue debido a que las aves se alimentan de los cadáveres de bovinos tratados previamente con diclofenaco y luego mueren por insuficiencia renal. A partir de 2006, la India, Nepal, y Pakistán prohibió el uso veterinario de diclofenaco (reemplazado por meloxicam)[13].

Riesgo en humanos

Por otro lado, la presencia de antibióticos en el medio ambiente aumenta el riesgo de resistencia a los antimicrobianos, con la consiguiente disminución de su eficacia en los seres humanos, aunque lo más determinante en la aparición de resistencias es el uso excesivo o inadecuado cuando se administra en humanos. No hay estudios con suficiente nivel de evidencia o que resulten concluyentes en cuanto a otros potenciales riesgos en humanos derivados de la presencia de medicamentos en el medio ambiente.

Aunque en esta sección se deben repasar los conceptos fundamentales del artículo, no reproduzca el resumen como conclusión. Una conclusión debe desarrollar la importancia del trabajo o sugerir aplicaciones o extensiones. No aluda a las diferentes figuras y/o tablas en las conclusiones— ellas deben referenciadas en el cuerpo del artículo.[14]

6. CONCLUSIÓN

La ecofarmacovigilancia es una nueva disciplina que surge debido a la creciente preocupación de las potenciales consecuencias nocivas de los productos farmacéuticos en el medio ambiente dado el elevado consumo de medicamentos de uso humano y veterinario y la limitada eficiencia de los sistemas de depuración de los mismos. Existen numerosos estudios que demuestran que la presencia de estos compuestos químicos en el medioambiente afectan a numerosas especies, no obstante existe mucha controveersia en cuanto a los posibles efectos en los seres humanos, por lo que se hace patente seguir investigando al respecto, mejorar la eficacia de los sistemas de depuración así como los métodos analíticos ya que existen importantes limitaciones metodológicas en la realización de los estudios de ecotoxicidad, derivadas tanto de la escasa utilización de estándares cualitativos de referencia, como de la escasa realización estudios de seguimiento y control; así como, relacionadas con la incertidumbre para establecer una relación de causalidad entre las concentraciones de fármacos en el medio ambiente y los efectos nocivos observados.

Por otro lado, aunque el establecimiento por parte de la Agencia Europea del Medicamento de unas directrices sobre la Evaluación del Riesgo Ambiental y sobre el Plan de Minimización de Riesgos que son de aplicación para la industria farmacéutica, ha supuesto un importante avance, son necesarias muchas más medidas para fortalecer y consolidar la ecofarmacovigilancia, desde promover un uso más racional de los medicamentos hasta desarrollar el concepto de la farmacia verde.

REFERENCIAS

- [1] López Serna, Rebeca. Análisis y destino de residuos farmacéuticos en aguas subterráneas, superficiales y residuales. Barcelona, 2013 (Tesis doctoral).
- [2] Gonzalez Moscoso, A, Montoya Vargas,W. Ecofarmacovigilancia, Vol 5, nº 4, Disponible en URL:

[file:///C:/Documents%20and%20Settings/jaim e%20nuevo/Mis%20documentos/Downloads/20779-46857-1-SM%20\(1\).pdf](file:///C:/Documents%20and%20Settings/jaim e%20nuevo/Mis%20documentos/Downloads/20779-46857-1-SM%20(1).pdf)

- [3] BIO Intelligence Service. Study on the environmental risks of medicinal products. Executive Agency for Health and Consumers, 2013.
- [4] Daughton C. G, Sue Ruhoy I, The Afterlife of Drugs and the Role of PharmEcovigilance. *Drug safety*, 2008; 31(12) 1069-1082.
- [5] Milla S, Depiereux S, Kestemont P. The Effects of Estrogenic and Androgenic Endocrine Disruptors on the Immune System of Fish: A Review. *Ecotoxicology*, 2011;20 (2): 305-319.
- [6] Swan G, Naidoo V, Cuthbert R, et al. Removing the Threat of Diclofenac to Critically endangered Asian Vultures. *Plos Biology*, 2006; 4(3):e66.
- [7] Partridge C, Boettcher A, Jones AG. Short-term Exposure to a Synthetic Estrogen Disrupts mating Dynamics in a Pipefish. *Horm Behav*, 2010; 58(5):800-807.
- [8] Velo G, Moretti U. Ecopharmacovigilance for Better Health. *Drug Saf* 2010; 33 (11): 963-968.
- [9] Lin J, Yan M, Sahin O, Pereira S, Chang YJ, Zhang Q. Effect of Macrolide Usage on Emergence of Erythromycin-Resistant *Campylobacter* Isolates in Chickens . *Antimicrob Agents Chemother*, 2007; 51: 1678–1686.
- [10]Phillips I, Casewell M, Cox T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother*, 2004; 53:28-52.
- [11].Tilló Barrufet,T.Los medicamentos y su influencia en el medio ambiente. Disponible en URL: [file:///C:/Documents%20and%20Settings/jaim e%20nuevo/Mis%20documentos/Downloads/MEDICAMEN-TOS%20Y%20MEDIO%20AMBIENTE%20\(2\).pdf](file:///C:/Documents%20and%20Settings/jaim e%20nuevo/Mis%20documentos/Downloads/MEDICAMEN-TOS%20Y%20MEDIO%20AMBIENTE%20(2).pdf)
- [12]Swan G, Naidoo V, Cuthbert R, et al. Removing the Threat of Diclofenac to Critically endangered Asian Vultures. *Plos Biology*, 2006; 4(3):e66.

<http://www.seo.org/2014/05/27/un-nuevo-estudio-demuestra-que-el-diclofenaco-tambien-mata-aquilas/>

[13]M.H. Woodford MH, Bowden CGR. El diclofenaco en África ¿se repetirá el error cometido en Asia? Bull-ESP2008-2:boletin INT 25/6/08: 11-14. Disponible en URL:<http://www.oie.int/doc/ged/D4900.PDF>

[14].COM (2011) 748 final, Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance. Communication from the Commission to the European Parliament and the Council. Disponible en URL: http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safe-ty/docs/communication_amr_2011_748_en.pdf



Elena Torelló Fernández. Graduada en Ciencias en la Pablo de Olavide, 2016.

NANOEMULSIONS

Berta Jiménez-Alfaro Hacha, Cristian Segura Rodríguez, María Guillén Ángel, Pilar
Hermán Aroz y Sandra Jiménez Lozano

Abstract- Emulsions are unstable biphasic systems formed by two immiscible liquids with droplets sizes covering a range that varies from nanometres to micrometres, depending on the type. Their origin can be either spontaneous or artificial by the action of emulsifiers. Among the diverse types, nanoemulsions are the most remarkable ones due to their wide range of applications and furthermore their thermodynamic stability, being relevant in vaccines and others drug delivery systems. Moreover, nanoemulsions present the ability to release their content in a process called destabilization.

Key words- Destabilization, Emulsifier, Emulsions, Nanoemulsions, NEDDS.

1. INTRODUCTION

Nanoemulsions are nano-sized emulsions with droplet size on the order of 100 nm. Among all types of emulsions, they stand out because of their thermodynamic stability. Nevertheless, it is crucial to know what an emulsion is for a better understanding of nanoemulsions.

Emulsions are dispersed systems consisting of two immiscible liquids. The liquid droplets (the disperse phase) are dispersed in a liquid medium (the continuous phase). Emulsions are often white although if they are diluted light can be distorted, and a yellowish colour may appear.

Several classes may be distinguished: oil-in-water (O/W), water-in-oil (W/O), water-in-oil-in-water (W/O/W), oil-in-water-in-oil (O/W/O) and oil-in-oil (O/O), where the latter case might be exemplified by an emulsion consisting of a polar oil dispersed in a nonpolar oil and vice versa. Although these ones are the most common, this classification may not include all types of emulsions.

To disperse two immiscible liquids, one needs a third component: the emulsifier. The choice of the emulsifier is crucial in the formation of the emulsion and its long-term stability since it reduces the interfacial tension and therefore, it makes the process kinetically favourable.

2. EMULSIFICATION AND EMULSIONS CLASIFICATION

The process by which an emulsion is formed is known as emulsification.

The establishment of the phases is chosen according to Bancroft's rule which states that the continuous phase of an emulsion is the one in which the emulsifier is more soluble. Emulsions are sometimes subdivided arbitrarily regarding the droplet size (macro-, nano-, microemulsions) and hence general aspects might be lost.

All of them are systems thermodynamically unstable since there is an increase of the area during emulsification, which

turns out into an increase of the Gibbs free energy.

$$\Delta G = \gamma \cdot \Delta A \quad (1)$$

where γ represents the interfacial tension and A the surface. Regarding this process, nanoemulsions can be highlighted by their stability. Nanoemulsion emulsification can occur spontaneously since their inner phase can act as an emulsifier itself forming nanosized droplets. Due to the spontaneity of the process, some of them may not need an emulsifier.

3. MECHANISMS OF EMULSIFICATION

There are two types of emulsifications: comminution (destruction) and condensation (construction), which is highly attached to thermodynamics. The condensation process includes the swelling of colloidal systems such as micelles or solid particles with liquids [1].

Emulsifications are ruled by temperature and particle composition. Active drug, additive and emulsifier provide a critical regulatory role in emulsifications.

3.1 Agents

Emulsifiers (or emulgents) are substances needed in the emulsification process, as they increase its kinetic stability. These components reduce the interfacial tension and form a barrier between the phases, at the same time that they control the type of emulsion that is going to be formed (O/W or W/O).

Emulsifiers present a hydrophilic and a hydrophobic part. This feature establishes its solubility, being determinant in the emulsion type. Many emulsifiers are found in various industries [2]:

-Food industry (mustard, sodium phosphates, egg yolks,

etc.)
-Pharmaceutical and cosmetic industries (detergents, etc.)

3.2. Nanoemulsion preparation

Nanoemulsions show many advantages (bioavailability, non-toxic nature, stability, etc.), as well as they present plenty of uses [4]. That is why they are widely studied and used in emulsification.

The formation of nanoemulsions takes place in two phases: the formation of macroemulsions to be converted, in a second step, in nanoemulsions [3]. Different mechanisms or techniques are useful in order to do this: high-energy emulsification and low-energy emulsification (See Figure 1).

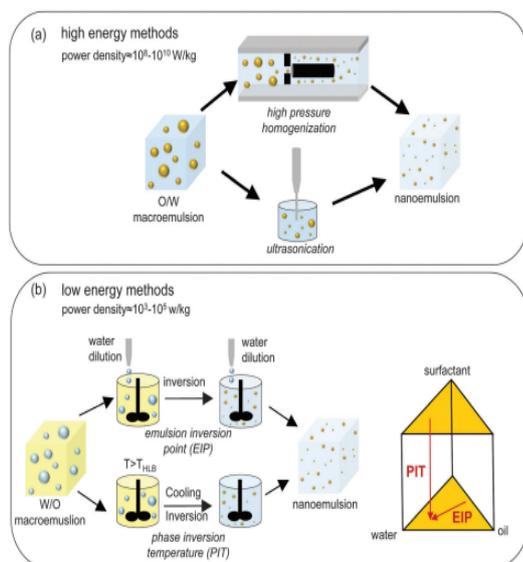


Figure 1. High energy and low energy methods for preparing O/W nanoemulsions. (a) High energy break macroemulsions drops into smaller droplets. (b) Low energy methods start with W/O macroemulsions and break coarse emulsions into smaller droplets as they pass through a state of low interfacial tension.

These two techniques are divided in some other methods among which we can highlight:

-Ultrasonic emulsification in its efficiency reducing droplet size. By using this method, only small batches of nanoemulsions can be prepared.

-High-pressure homogenization applies a high pressure over the system having oil phase, aqueous phase and surfactant. It presents some disadvantages such as poor productivity or component deterioration.

In addition to these mechanisms, there are others such as microfluidization which uses a developed mixing technology, phase inversion temperature and spontaneous emulsification [4], [5].

3.3. Destabilization mechanisms

Emulsions are kinetically stable and given the sufficient time, they would eventually separate into several phases. Destabilization mechanisms comprises flocculation, coalescence, Ostwald ripening and creaming/sedimentation.

In flocculation, droplets come together due to attractive

interactions, forming a mass. In contrast, during coalescence, particles aggregate to form a liquid layer, although it is quite difficult to distinguish these two possibilities.

Ostwald ripening occurs because of the difference in chemical potential of solute within droplets. the chemical potential of the dispersed phase is higher in smaller droplets than in larger ones. Therefore, providing the driving force for mass transfer from the smaller to the larger droplets.

Creaming involves the droplet rise due to buoyancy, eventually leading to phase separation (similarly, in sedimentation, droplets settle down). For this to occur, the buoyant force must dominate over the thermal fluctuations (See figure 2).

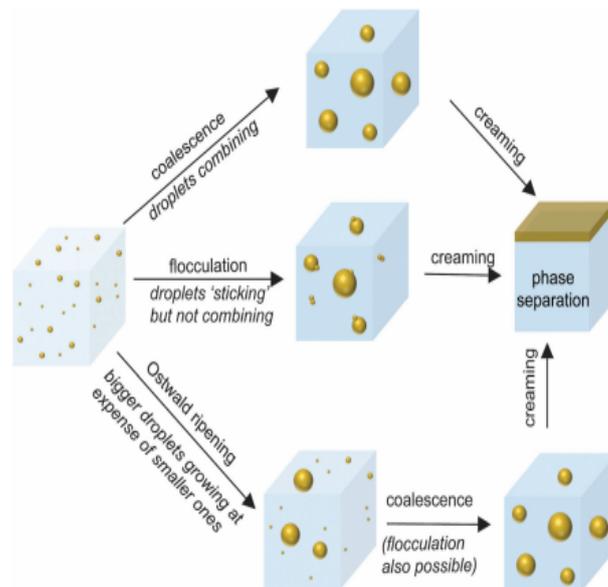


Figure 2. Scheme of nanoemulsion destabilization methods.

Due to their stability and their small droplet size, nanoemulsions could resist many ways of destabilisation such as gravitational separation, flocculation and coalescence. They could also avoid the creaming process because the droplet's Brownian motion is enough to overcome the gravitational separation force. [6]

4.APPLICATIONS

Overviewing the properties of emulsions, it is understandable why NanoEmulsions have been developed as Drug Delivery System (NEDDS) in the last years. Nanoemulsions provide a wide range of advantages in this usage:

- They improve the bioavailability of the drug and physical stability.
- They provide a higher rate of absorption.
- They can be formulated as creams, foams, liquids or sprays.
- They help in the solubilization of lipophilic drugs.
- Their nature is non-toxic and non-irritant.
- They help to increase the tastefulness of drugs.
- The requirement of energy is lower. [7]

Emulsions (O/W) have been widely used as adjuvants (immunological agent which stimulates the immune systems' response) for vaccines due to their capacity of good injection. However, nanoemulsions have substituted them

due to the recent development of nanotechnology (therefore solving the problem of size that emulsions presented). Nanoemulsions could exhibit antimicrobial, antiviral and antifungal activity. As adjuvants they are especially efficient for vaccines which use intact viruses. They can enhance intramuscular systemic or nasal immune responses. When preparing a nanoemulsion adjuvant, several factors should be taken into consideration in order to optimize its activity: the influence of the surfactant-to-oil ratio, the size and the zeta potential of the proteins which will be added to the vaccine, the influence of the order of addition (of the components that form the nanoemulsion) on the droplet size and zeta potential. In spite of the advantages that nanoemulsions present as adjuvants, they have not been widely distributed yet. [8]

Nanoemulsions also can be used in targeted cancer therapy due to their droplet size. Different strategies in targeted cancer therapy could involve nanoemulsions as NEDDS: the exploit of the microenvironment of the tumour, passive targeting and active targeting. In the case of exploiting the microenvironment of the tumour, nanoemulsion transport angiogenesis (physiological process in which new blood vessels are formed from existing ones) inhibitors or compounds that change the optimum pH for the microenvironment of the tumour. In the case of passive targeting, nanoemulsions encapsulate therapeutic agents which promote the enhanced permeability and retention (EPR) effect. Whereas, in the case of active targeting, a component that recognizes a target in the tumour is attached to the surface of the nanoemulsion. The targets selected are the ones which are only overexpressed in tumour cells such as transferrin, folate and epidermal growth factor receptor. Furthermore, lipids which are sensitive to changes in temperature or pH are used in delivering drugs due to their versatility of drug loading. Thus, nanoemulsions which are composed of this kind of lipids will be used not only as NEDDS but also in targeting imaging. [9]

Nanoemulsions have other applications in healthcare such as oral drug delivery, ophthalmic drug delivery, topical antimicrobial etc.

5. CONCLUSIONS

Although the emulsification process is common to all types of emulsions, only nanoemulsions present unique thermodynamics characteristics and properties, point at which their stability must be highlighted. Thanks to this property, they play a key role in the transport of certain substances that is being used in several applications in diverse areas such as drug delivery, food, cosmetics, pharmaceuticals, and material synthesis.

REFERENCES

- [1] Mpikg.mpg.de. (2018). Available at: https://www.mpikg.mpg.de/886807/Emulsions_-1.pdf [Accessed 29 Jan. 2018].
- [2] Shechter, D. (2018). Types of Emulsifiers & How High-Pressure Homogenization Creates Stable Emulsions. [online] Beei.com. Available at: <http://www.beei.com/blog/types-of-emulsifiers-how-high-pressure-homogenization-creates-stable-emulsions> [Accessed 29 Jan. 2018].

- [3] Mit.edu. (2018). Available at: http://www.mit.edu/~ankurg/5_Gupta2016a_SoftMatt.pdf [Accessed 29 Jan. 2018].
- [4] Manjit Jaiswal, Rupesh Dudhe and P. K. Sharma, "Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system" 3 Biotech. 2015 Apr; 5(2): 123–127. Published online 2014 Apr
- [5] Sharma, N., Mishra, S., Sharma, S., Deshp, R. and Sharma, R. (2018). Preparation and Optimization of Nanoemulsions for targeting DrugDelivery. [online] Ijddr.in. Available at: <http://www.ijddr.in/drug-development/preparation-and-optimization-of-nanoemulsions-for-targeting-drugdelivery.php?aid=5740> [Accessed 29 Jan. 2018].
- [6] Bernardi, D., Pereira, T., Maciel, N., Bortoloto, J., Viera, G., Oliveira, G. and Rocha-Filho, P. (2018). Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments.
- [7] Manjit Jaiswal, Rupesh Dudhe and P. K. Sharma, "Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system" 3 Biotech. 2015 Apr; 5(2): 123–127. Published online 2014 Apr
- [8] HongWu Sun, Chao Wei, BaoShuai Liu, HaiMing Jing, Qiang Feng, YaNan Tong, Yun Yang, LiuYang Yang, QianFei Zuo, Yi Zhang, QuanMing Zou, and Hao Zeng, "Induction of systemic and mucosal immunity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection by a novel nanoemulsion adjuvant vaccine" Int J Nanomedicine. 2015; 10: 7275–7290. Published online 2015 Dec
- [9] Srinivas Ganta, Meghna Talekar, Amit Singh, Timothy P. Coleman, and Mansoor M. Amiji, "Nanoemulsions in Translational Research—Opportunities and Challenges in Targeted Cancer Therapy" AAPS PharmSciTech. 2014 June; 15(3): 694–708. Published online 2014 Feb



Berta Jiménez-Alfaro Hacha, Cristian Segura Rodríguez, María Guillén Ángel, Pilar Hermán Aroz y Sandra Jiménez Lozano. Estudiantes de segundo curso del grado de Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide.

Aplicación de un modelo de predicción de vulnerabilidad en edificios históricos del conjunto histórico de Sevilla

Cristina Gómez, Andrés J. Prieto, Rocío Ortiz

Resumen—En este artículo se analizan los resultados obtenidos utilizando la lógica difusa aplicada al patrimonio. Se plantea un modelo de predicción de la vulnerabilidad basado en lógica difusa aplicado a los edificios estudiados en el centro histórico de Sevilla. Mediante el programa de lógica difusa se obtienen los datos de vulnerabilidad y posteriormente pueden ser comparados con los resultados obtenidos con otra metodología de análisis de vulnerabilidad basada en matrices de Leopold de valoración de daños.

Palabras Claves— Vulnerabilidad, lógica difusa, patrimonio, conservación preventiva.



1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

EL objetivo de este trabajo es desarrollar un modelo de predicción de vulnerabilidad en edificios históricos del conjunto histórico de Sevilla. Para ellos se parte de los estudios sobre predicción de vida útil con la utilización de lógica difusa y se aplica al estudio de la vulnerabilidad en los edificios históricos de Sevilla. La primera etapa del proyecto se ha llevado a cabo como un proyecto de colaboración entre la Universidad Pablo de Olavide y la Universidad de Sevilla dentro del proyecto Art-risk.

El primer objetivo ha sido el diseño y puesta en funcionamiento de un nuevo modelo basado en una nueva metodología sustentada en la teoría de conjuntos difusos, capaz de predecir la vulnerabilidad intrínseca de los edificios patrimoniales estudiados [1]. Una vez obtenidos los resultados del índice de vulnerabilidad fueron analizados los resultados. Este índice de vulnerabilidad indica el estado de conservación actual del edificio y permite establecer un orden de prioridad a la hora de intervenir y restaurar el patrimonio histórico. Esta metodología ayuda a la toma de decisiones mediante un criterio objetivo de priorización ya que tiene en cuenta el estado actual de conservación del edificio y permite establecer plazos para su intervención. Teniendo en cuenta la situación actual de crisis se trata de una metodología económica para la evaluación y el diagnóstico del patrimonio y ayuda a establecer criterios para la conservación preventiva.

2. METODOLOGÍA

En primer lugar, es necesario definir en qué edificios se van a estudiar. Para desarrollar la predicción de la vulnerabilidad se tomaron como objeto de estudio 30 iglesias gótico-mudéjares, barrocas y neoclásicas del conjunto histórico de Sevilla. Estas iglesias coinciden con las estudiadas por Ortiz [2] y son las siguientes: El Salvador, La Anunciación, La Magdalena, La O, Omnium Sanctorum, San Esteban, San Gil, San Idelfonso, San Isidoro, San José, San Juan de la Palma, San Julián, San Lorenzo, San Mar-

cos, San Martín, San Nicolás, San Pedro, Santa Ana, Santa Catalina, Santa Cruz, Santa Inés, Santa Isabel, Santa Marina, Santa María la Blanca, San Román, San Vicente, Santiago, San Bartolomé, San Andrés y Sagrario.

A continuación, fue necesario establecer las variables que influyen en la vulnerabilidad. Para establecer dichas variables se recurrió a la opinión de ocho expertos mediante una serie de encuestas [3] y [4]. Estos cuestionarios se realizaron dentro del trabajo de Ortiz [2] y siguiendo la metodología DELPHI [5] consistente en seleccionar un grupo de expertos a los que se les pregunta su opinión sobre acontecimientos futuros, en este caso relacionados con la vulnerabilidad de un edificio [2]. Las variables empleadas en este estudio han sido las variables de entrada del modelo, las cuales fueron anteriormente validadas por el conjunto de expertos que han participado durante la fase de diseño del modelo. Dichas variables son: V1. Características físico-químicas, V2. Textura, V3. Resistencia al fuego, V4. Estética, V5. Catalogación y Nivel de Protección, V6. Nivel de uso, V7. Cubierta, V8. Revestimientos, V9. Instalación de saneamiento, V10. Cimentación, V11. Estructura, V12. Simplicidad de la solución constructiva.

2.1. Análisis de las encuestas

Una vez obtenidos los resultados de las encuestas se procedió a crear las reglas de inferencia difusas. Para ello se establecen cinco posibles valoraciones de las variables de entrada, de forma que el máximo valor (1) corresponde a muy bien y el mínimo valor (5) a muy mal. Quedaría de la siguiente forma: Muy bien *mb* (1), Bien *b* (2), Regular *r* (3), Mal *m* (4), Muy mal *mm* (5).

Con este criterio, ya se pueden crear las funciones de pertenencia que se emplearán en el software Xfuzzy 3.0 [6].

Tabla 2.

Comparación de los resultados de vulnerabilidad obtenidos por Ortiz [2] y los obtenidos por este trabajo utilizando lógica difusa.

Datos procedentes de la Tesis de Ortiz [2]	VI EXPANDIDO	Datos obtenidos en este trabajo	
IGLESIA			
LA O	9	LA O	37
SAN ROMAN	11	SAN NICOLAS	44
SANTA INES	14	SANTA MARIA	44
SAN LORENZO	16	SAN GIL	44
SAN MARCOS	16	SANTIAGO	47
SAN BARTOLOME	17	SAN JUAN DE LA PALMA	48
EL SALVADOR	20	SAN BARTOLOME	48
SAN PEDRO	20	SAN ANDRES	48
SAN ESTEBAN	21	SAN ISIDORO	50
SANTA ISABEL	21	SAN MARTIN	50
SAN ANDRES	23	SAN ROMAN	51
SAN GIL	23	SAN JOSE	51
SAN JOSE	24	SAN VICENTE	51
SAN VICENTE	24	SANTA CRUZ	51
SAN NICOLAS	25	SANTA INES	52
SANTA MARIA LA BLANCA	25	SAN LORENZO	52
SANTA MARINA	26	SAN MARCOS	52
SANTIAGO	26	SAN PEDRO	52
SAN ILDEFONSO	25	SAN ESTEBAN	52
SAN ISIDORO	28	SANTA ISABEL	52
SAN MARTIN	28	SANTA MARINA	52
SAN JULIAN	29	SAN ILDEFONSO	52
SAN JUAN DE LA PALMA	30	SAN JULIAN	52
SANTA CATALINA	32	SALVADOR	53
SANTA ANA	34	SANTA CATALINA	53
OMNIUM SANCTORUM	36	SANTA ANA	53
SANTA CRUZ	36	MAGDALENA	57
ANUNCIACION	43	OMNIUM SANCTORUM	60
MAGDALENA	46	SANCTORUM	62
SAGRARIO	60	ANUNCIACION	62
		SAGRARIO	66

4. CONCLUSIONES

En cuanto a metodología, la lógica difusa es válida para conocer la vulnerabilidad de un edificio ya que se obtienen resultados coherentes y se disponen de los datos necesarios para poder validar las hipótesis con el programa Xfuzzy 3.0. Para este tipo de estudio es necesario un análisis previo de las variables y reglas de inferencia con un grupo de expertos ya que las reglas de inferencia que se plantean provienen del conocimiento de los expertos por lo que es importante la selección de los expertos y la elaboración del cuestionario.

En cuanto al programa Xfuzzy 3.0, la utilización de este tipo de programa de lógica difusa aplicado a la vulnerabilidad de edificios permite obtener una graduación de mayor a menor. Las simulaciones dentro del programa se realizan introduciendo las hipótesis de cada iglesia y obteniendo como resultado el índice de vulnerabilidad de cada iglesia.

Tras realizar numerosas hipótesis con el programa se llega a la conclusión de que la metodología planteada funciona correctamente y los datos guardan relación con los obtenidos por el método de la matriz de daños. Las iglesias con mayor índice de vulnerabilidad son Sagrario, Magdalena, Anunciación, Omnium Sanctorum, Santa Catalina y Santa Ana, y coinciden en ambas metodologías. También en ambas metodologías la Iglesia con menor índice de vulnerabilidad (La O) coincide.

Como conclusión general, esta metodología mediante lógica difusa abre un nuevo enfoque al cálculo de vulnerabilidad en edificios históricos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Juan Manuel Macías Bernal por sus consejos y asesoramiento durante todo el trabajo.

Este trabajo ha sido desarrollado basado en la metodología de dos proyectos: RIVUPH, proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía (code HUM-6775), y Art-Risk, proyecto RETOS del Ministerio de Economía y competitividad (code BIA2015-64878-R-MINELO/FEDER/UE)

REFERENCIAS

- [1] J.M. Macías Bernal, Modelo de predicción de la vida útil de un edificio: una aplicación de la lógica difusa, Departamento de construcciones arquitectónicas II, Universidad de Sevilla, [2012]. Tesis Doctoral.
- [2] R. Ortiz Calderón, Análisis de vulnerabilidad y riesgos en edificios singulares de Sevilla, Departamento de Sistemas Físicos, Químicos y Naturales, Universidad Pablo de Olavide, [2014]. Tesis Doctoral.
- [3] RIVUPH. Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía HUM-6775 de riesgos y vulnerabilidad en el Patrimonio Histórico.
- [4] Encuesta ECOMIMESIS, Informe Vulnerability, 2015. Proyecto de Excelencia RIVUPH de la Junta de Andalucía (códigoHUM-6775).
- [5] T.J.Gordon. The Delphi Method, Futures Research Methodology Version 1.0. Sec 5^a, The Millennium Project. American Council for the United Nations University, Jerome C. Glenn, Editor Washington, 1994.
- [6] Xfuzzy 3.0 software. CNM Centro Nacional de Microelectrónica e IMSE Instituto de Microelectrónica de Sevilla
- [7] Página web del Instituto de Microelectrónica de Sevilla <http://www.imse.cnm.es/> [visitado 21-03-2016].
- [8] Página web de Xfuzzy 3.0 <http://www2.imse-cnm.csic.es/Xfuzzy/Fleb/Fleb.htm> [visitado 21-03-2016].



Cristina Gómez Fernández recibió el título de Arquitecto por la Universidad de Sevilla en 2014 y el título de Máster en Diagnóstico del Estado de Conservación del Patrimonio Histórico en la Universidad de Pablo de Olavide en 2016. Actualmente trabaja como arquitecta en Inglaterra participando en varios proyectos de edificios catalogados.
Correo: gomezfernandezcristina@gmail.com

Popper, el elixir sexual

David Domínguez Rocha

Resumen—Los *poppers* son una serie de sustancias derivadas de alquilnitritos usadas como droga recreativa principalmente con fines sexuales, por provocar un efecto vasodilatador y euforia que motiva un incremento de la potencia y el placer sexual. Pese a que no es una droga muy conocida, entraña importantes peligros, pudiendo producir daños inmunológicos, afecciones visuales, tumores, y hasta favorecer la carcinogénesis oncológica asociada a ciertos virus. Con todo, el *popper* es relativamente fácil de obtener, tiene una escasa regulación legal y bajísimo control en la mayoría de países (incluido el nuestro), llegando a ser legal en muchos países pese a los peligros, reconocidos internacionalmente, que pueden entrañar para la salud humana.

Palabras Claves— Alquilnitrito, Droga, Efectos, Popper, Nitrito de amilo.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy día, todos somos plenamente conscientes de que vivimos en una realidad global donde los problemas del abuso de determinadas sustancias como el alcohol, el tabaco o el cannabis, del narcotráfico y de la drogodependencia están a la orden del día y requieren de una intervención rápida y eficaz, tanto para prevenir como para intervenir. Drogas como el LSD, la cocaína, la heroína y otras son bien conocidas por el público general, y existe, usualmente, una gran concienciación; estamos en la sociedad de la información, en la era digital: abundan en internet y en todos los medios los datos sobre los riesgos del consumo de estupefacientes, y ya desde la infancia, en los colegios, se vienen informando de la peligrosidad de ciertas sustancias, tratando de alejarnos lo máximo posible de ellas.

No obstante, aún existen drogas que pasan desapercibidas por la mayoría de personas, drogas de las que uno ni siquiera ha oído hablar y que tienen un escasísimo control, pero no por ello son necesariamente menos peligrosas o menos dignas de un estudio y un cierto control. Es aquí donde entra, entre muchas otras, una droga conocida coloquialmente como *popper*, que, como el LSD y la mayoría de drogas de abuso más frecuentes, es una droga recreativa (esto es, utilizada fundamentalmente por diversión, por ocio, debido a los efectos estimulantes o placenteros que provoca); no obstante, los *poppers*, como ya se ha dicho, son sustancias generalmente desconocidas y que tienen un alarmantemente bajo control, además de ser bastante fáciles de conseguir en comparación con otras sustancias. Es por eso que vamos a dedicarle unas líneas a esta particular droga de la que no se suele hablar, con objeto de que podamos conocerla un poco más.

2. LOS POPPERS: DEFINICIÓN Y EFECTOS PRINCIPALES

2.1. ¿Qué son los *poppers*?

“*Popper*” es el nombre genérico y coloquial que se les da a

toda una serie de sustancias de abuso volátiles e inhalantes relacionadas con distintas formas de nitritos de alquilo o alquilnitritos. Son de un color amarillo claro, olor aromático y gusto picante [1]. Como muchas otras drogas hoy en día consideradas de abuso, originalmente los *poppers* surgieron como medicamentos, concretamente empleados en el tratamiento de la angina de pecho [2].

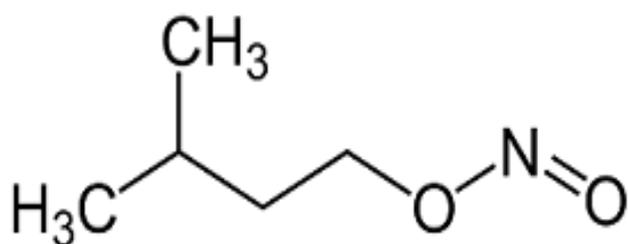


Botes de popper (Figura 1)¹

También fueron utilizados como tratamiendo de urgencia de la intoxicación por cianuro, debido a la capacidad que tienen los nitritos de amilo para ser rápidamente absorbidos e inducir la generación de metahemoglobina [3]. Desde el punto de vista químico, los alquilnitritos pueden presentar varias formas, y todas ellas entrarían en el concepto coloquial de *popper* (desde nitritos de butilo, nitritos de isobutilo, nitritos de amilo...). De entre ellas, el nitrito de amilo fue la primera forma que adquirió esta droga, creada por el químico francés Antoine Jerome Balard para, como ya se ha dicho, tratar con ella la angina de pecho [4]. Su fórmula química molecular es la que sigue: $C_5H_{11}NO_2$.

¹ Fuente: <http://www.buypoppers.us>

Los *poppers* son frecuentemente comercializados en la forma de pequeños botes como los que se muestran



Fórmula química estructural del nitrito de amilo (Figura 2)²

2.2. Efectos principales

¿Por qué, entonces, catalogamos hoy en día como “drogas” a estas sustancias? ¿Qué ha motivado que su uso se convierta en algo lúdico y recreativo? Pues bien, los *poppers* tienen como principal efecto la generación de euforia y, sobre todo, una vasodilatación, provocando una relajación de los músculos. Dichos efectos se han venido usando, desde los años 60-70, para incrementar la sensación de placer sexual y la potencia sexual; además, la relajación muscular fomenta, también, la dilatación tanto de los conductos vaginales como de los esfínteres, favoreciendo y facilitando las relaciones sexuales vaginales y anales [2]. Es por esto que los *poppers* son considerados, dentro de las drogas recreativas o lúdicas, como “drogas de uso sexual”. Aunque se ha usado tradicionalmente en todo tipo de públicos, siempre ha existido, y sigue existiendo en la actualidad, un mayor índice de consumo en el público masculino homosexual.

3. LEGALIDAD DE LA SUSTANCIA

A diferencia de lo que sucede con muchas otras drogas de abuso recreativas, los *Poppers* no siempre han sido considerados ilegales y, de hecho, no son ilegales en todos los países. Si bien es cierto que en muchas zonas se controlan las ventas y el tráfico de la sustancia, no existe ese control en todas las zonas del mundo, siendo un producto comercializado con total normalidad en muchas partes, pudiendo encontrarse desde en *sex-shops* hasta en farmacias. En su resolución 53/13, la Comisión de Estupefacientes de las Naciones Unidas quiso destacar la peligrosidad de los nitritos de amilo o *poppers*, e instó a los Estados Miembros de la Unión Europea a controlar el problema del uso de tales compuestos “cuando proceda”. Siendo más concretos, en España, los *poppers* tienen la consideración legal de medicamentos por tener en su composición sustancias farmacológicamente activas, por lo que se atenderán a la regulación de la Ley 29/2006 de Garantías y uso racional de Medicamentos y Productos Sanitarios. En la actualidad, no existe en España ningún medicamento autorizado que contenga alquilnitritos de cualquier tipo, por lo que los *poppers* son de todo punto ilegales y su distribución podría encajar en el tipo genérico del ilícito penal contra la seguridad pública del artículo 359 del Código Penal; únicamente podrían emplearse estos productos con la debida autorización facultativa y para los usos indicados por el profesional que autorice, pero nunca para uso lúdi-

² Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Nitrito_de_amilo

co (que, en la práctica, es el uso más común de la sustancia) [3].

4. EFECTOS ADVERSOS DE LOS POPPERS

4.1. Principales efectos secundarios

Ha quedado claro que, tanto para la Unión Europea como para España (y muchos otros países), el consumo y distribución de los *poppers* puede conllevar un riesgo para la salud pública. Pero, ¿cuáles son exactamente esos riesgos? ¿Qué peligros puede suponer el consumo de *poppers*?

En España, la Fundación de Ayuda contra la Drogadicción (conocida como FAD) establece que uno de los principales peligros que entraña el consumo de *poppers* es su capacidad para generar tolerancia, entendida como aquel proceso por el que un individuo, por administración continuada de una sustancia, desarrolla menor sensibilidad a ella, y por tanto necesita de mayores dosis para notar los mismos efectos [5]. Además, enlista toda una serie de efectos secundarios que puede implicar el consumo de nitritos del alquilo: desde vértigos, debilidad, dolores de cabeza, congestiones musculares, hasta taquicardias, sensación de fatiga o tristeza, pasando, en los casos más graves, por colapso severo, cianosis, depresión severa del sistema nervioso central y hasta un aumento de la agresividad y otras afecciones conductuales [1].

El nitrito de amilo (la forma más habitual en que se comercializa y consume el *Popper*) libera óxido nítrico (NO), lo que puede provocar, en contacto con fármacos inhibidores de fosfodiesterasa, con los que es frecuente que se use conjuntamente por ser utilizados en el tratamiento de la disfunción eréctil (y, por ende, utilizarse también para favorecer la relación sexual), una potenciación de los efectos de ambos fármacos. Dicha potenciación podría derivar en una hipotensión grave, pudiéndose producir, incluso, una parada cardíaca. De hecho, es posible que el consumo de esta sustancia pueda, en casos poco frecuentes, producir la muerte del sujeto [3].

4.2. Otros efectos adversos

Se ha escrito numerosa literatura acerca de los efectos adversos que puede provocar el consumo de alquilnitritos, y existen múltiples estudios que relacionan los *poppers* con diferentes tipos de patologías y problemas de salud. En un estudio realizado por James J. Goedert et al. en 1982, se valoró la posibilidad de que los nitritos de alquilo pudiesen ser inmunosupresores, vinculando su consumo habitual con el nivel de T-limfocitos [6]. Se ha demostrado que dicha inmunosupresión puede ser una de las consecuencias de la inhalación de nitritos, favoreciendo la replicación viral y el crecimiento de tumores [2]. Otro estudio, mucho más reciente, llevado a cabo por David R. Lorenz et al. Determinó, asimismo, que la exposición prolongada y en grandes cantidades al *popper*, si bien no provoca cánceres individuales ni aumenta el riesgo de padecerlos, sí que está asociada al riesgo de contraer cánceres oncológicos asociados a virus como el VPH, el virus de Epstein-Barr o el virus de la hepatitis B y C, curiosamente siendo dichos virus transmitidos principalmente por vía sexual [7].

Es llamativa y ha sido objeto de múltiples estudios la posibilidad de sufrir pérdida de visión u otras afecciones visuales a causa del consumo de alquilnitritos. Según dichos estudios, el consumo de *poppers* (probablemente, pese a que no exista suficiente certeza científica, debido a la liberación excesiva de óxido nítrico) puede provocar maculopatía y pérdida de visión, pudiendo generarse alteraciones visuales incluso después de un solo uso. Habitualmente, estos síntomas se manifiestan con mucha rapidez, iniciando tras horas o días después del consumo y comenzando con un deterioro de la visión central o visión borrosa como primer síntoma. No obstante, estas alteraciones visuales suelen ser reversibles, y solo se han reportado con algunos tipos de nitritos, destacando el nitrito de isopropilo como el más involucrado [2].

5. EL PROBLEMA DE LA HOMOFOBIA

Juega un papel importante en este tipo de sustancias la población que lo consume, según las estadísticas, en mayor proporción: los hombres homosexuales. En principio, no debería importar en el estudio de la sustancia, más que como datos útiles para elaborar campañas de prevención o intervención, las características de la población consumidora, sino la sustancia en sí y la peligrosidad que esta entraña, independientemente de quién tienda a consumirla en mayor o menor medida. Sin embargo, un vistazo rápido a la bibliografía sobre *poppers* (bastante escasa en relación con otras drogas “hermanas”, probablemente por su uso menos extendido y por ser menos conocida) servirá para darnos cuenta de que la mayoría de estudios se realizan sobre población homosexual, que se hace constante referencia al grupo gay, e incluso se legisla teniendo en primera línea argumental el consumo por parte de la comunidad homosexual.

Parece que los *poppers*, que si bien son utilizados mayoritariamente por un grupo social concreto no son exclusivamente usados por estos, están tremendamente asociados y vinculados a la población homosexual. En un principio, esto no debería ser un problema, pero corre el peligroso riesgo de ser utilizado como “arma” para esgrimir en contra de la comunidad. Un enfoque y estudio de la sustancia excesivamente centrado en la comunidad LGTB como consumidores puede transmitir (y de hecho, puede usarse de forma distorsionada intencionada o inintencionadamente) una imagen distorsionada del colectivo, pudiendo realizarse con mucha facilidad una generalización y criminalización en base a datos estadísticos que ofrecen siempre información con el mismo grupo o colectivo en el punto de mira. En síntesis, con el análisis y los estudios sobre el *popper* que encontramos puede caerse fácilmente, como sucede a menudo con el VIH y otras enfermedades de transmisión sexual, en la homofobia por un mal enfoque de la sustancia: recordemos que múltiples estudios afirman que existe, aún a día de hoy e incluso entre la propia comunidad médica, mucha homofobia que condicionada y vinculada a ciertas enfermedades [8], y las estadísticas de consumo del *popper* y los estudios sobre el mismo apuntan a una peligrosa similitud entre ambos supuestos.

6. CONCLUSIONES

Los *poppers* son, a todas luces, una droga recreativa que entraña, como prácticamente todas, grandes peligros para la salud a cambio de un pequeño estímulo (en este caso, principalmente sexual) que, de hecho, es momentáneo y de efecto rápido. No obstante, su nivel de consumo, si bien no debe pasar desapercibido, no es tan alto como el de otras sustancias recreativas similares, y sus efectos, en líneas generales, no son tan adversos como los que pueden provocar estas. Estos hechos, sumados a la incapacidad de los alquilnitritos para generar dependencia, son, probablemente, los motivos por los cuales no se les presta la atención y el control legal que se les da a otras sustancias, siendo totalmente legales y comercializables en diversos países.

Los nitritos de alquilo son, en definitiva, una droga peligrosa (si bien no son de las más dañinas que puedan encontrarse) y no demasiado conocidas, pero no por ello inexistentes e inocuas; por eso, es importante hacer saber a la población la existencia y los peligros de estas sustancias, sin por ello caer en estigmatización o rechazo de ciertos grupos: porque el problema es la droga, y no quien la consume.

REFERENCIAS

- [1] Web de la Fundación de Ayuda contra la Drogadicción (FAD): <http://www.fad.es/popper>
- [2] Tolosa-Rodríguez MA., “Poppers, una causa tóxica real”, *Curare*. 2017; vol. 4, núm 1, Ene/Jun 2017.
- [3] Web del Plan Nacional Sobre Drogas (PNSD), Ministerio de Sanidad: <http://www.pnsd.msssi.gob.es/ciudadanos/informacion/drogas/Sintesis/otrasDrogas/poppers.htm>
- [4] Artículo en web de la BBC, “Qué son los “poppers”, la droga recreativa popular entre los gays que se prohibirá en Reino Unido”: http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/01/160126_cultura_reino_unido_popperssexo_gay_prohibicion_wbm
- [5] Escotado, Antonio, “Historia General de las Drogas”, Alianza Editorial, pp. 574, Madrid, 1998.
- [6] James J. Goedert et al., “Amyl nitrite may alter T lymphocytes in homosexual men”, *The Lancet*, vol. 319, issue 8269, 1982, pp. 412-416.
- [7] David R. Lorenz et al., “Long-term nitrite inhalant exposure and cancer risk in MSM”, *AIDS*, vol. 31, núm. 8, Mayo 2017, pp. 1169-1180.
- [8] Adalberto Campo-Arias, MD, “Homofobia en estudiantes de medicina: una revisión de los diez últimos años”, *MedUNAB*, vol. 11, núm. 2, pp. 120-123, 2008.



David Domínguez Rocha es estudiante de quinto curso de Derecho y Criminología en la Universidad Pablo de Olavide. Además, es escritor de ficción, contando con dos novelas publicadas por distintas editoriales.

Jaume Perich: “La penicilina se inventó por casualidad, el napalm no”

Elena Romero Rodríguez

Resumen—El napalm, que procede del acrónimo de ácido nafténico y ácido palmítico, es un combustible que produce una combustión mucho más duradera que la de la gasolina simple, lo cual ha sido aprovechado por los ejércitos en los combates, provocando graves quemaduras y, en la mayoría de los casos, muertes. El derecho internacional, consciente de las graves consecuencias que producen este tipo de armas químicas comenzó a establecer una legislación al respecto y prohibir su uso y fabricación. Se barajan distintas posibilidades sobre el destino final del napalm, una de ellas utilizar dicha arma química como una fuente de energía.

Palabras Claves— Derecho internacional, Guerra, Napalm, Recurso energético.

1. INTRODUCCIÓN

Hace más de 45 años que un avión survietnamita, durante la Guerra de Vietnam, arrojó una bomba de napalm cerca de la aldea de Trang Bang, lugar donde vivía Phan Thi Kim Phúc, más conocida como “la niña del napalm”. Esta niña fue fotografiada corriendo por la carretera, desnuda y con graves quemaduras [1].



Fig. 1. Fotografía tomada durante la Guerra de Vietnam por Nick Ut.

Durante la Primera Guerra Mundial, Alemania y Estados Unidos usaron una forma primitiva de napalm en los lanzallamas, pero la sustancia se quemaba demasiado rápido para que fuera eficaz contra el enemigo. Era necesario un material espesante para que el combustible se adhiriera a su objetivo previsto [2].

De esta manera, en los primeros meses de la Segunda Guerra Mundial, el Servicio de Guerra Química de los Estados Unidos utilizó látex del árbol del caucho. Con este material, la gasolina alcanzó un límite más lejano, se adhirió al objetivo con más fuerza y durante más tiempo. Sin embargo, cuando Estados Unidos combatía en la Guerra en el Pacífico, el caucho natural escaseaba [3].

Es entonces cuando a principios del año 1942, en el edificio Gill Laboratory de Harvard, Louis F. Fieser, profesor de química orgánica, comenzó a probar compuestos de

gelatina quemándolos dentro de un marco de madera, y luego midiendo el peso del armazón después de que la gelatina se quemara. Finalmente, Fieser probó con una combinación de ácido nafténico y ácido palmítico, uniendo ambas sustancias con el nombre de napalm [4].

El resultado fue un éxito, pues al mezclarse el napalm con la gasolina ésta se convertía en un arma letal, debido a que era altamente inflamable, se adhería con fuerza al objetivo y se mantenía encendida durante más tiempo, causando así un mayor daño [2].

De esta manera, el ejército de los Estados Unidos comenzó en 1942 a utilizar napalm y para finalizar la guerra acabó usando 75 millones de libra al año [4].

2. ¿QUÉ ES EL NAPALM?

2.1. Concepto

El napalm es, por lo que ya hemos podido deducir, una sustancia inflamable que se emplea como espesante de la gasolina y se utiliza para cargar bombas o proyectiles incendiarios.

Principalmente, se trata de un jabón de aluminio mezclado con ácidos oleico, coco y nafténico que se añade a la gasolina, en la que se produce una rápida gelificación a temperatura ambiente [5].

No obstante, tras la Guerra de Corea (1950-1953), se desarrolló un compuesto de napalm más seguro, pues se contralaba más fácilmente la ignición. Este compuesto se hizo llamar “napalm-B”, super-napalm o NP2. Esta nueva formulación no usa verdaderamente napalm, sino que utiliza una mezcla de poliestireno (46%), gasolina (33%) y benceno (21%) [3].

2.2. Composición del napalm

El napalm se ha producido en diferentes momentos y también por diferentes fabricantes, por lo que pueden existir marcadas diferencias en cuanto a su composición y sus propiedades.

Por tanto, nunca se ha formulado un estudio basado e una composición en particular, sino que la solución ha

sido el uso de promedios obtenidos de analizar varias composiciones. De esta manera, varios datos se refieren generalmente a diferentes composiciones.

Así, los componentes son los siguientes:

- a. **Humedad:** El contenido de humedad promedio del napalm según se determine por destilación de benceno o por secado rápido en la estufa de vacío es aproximadamente 0,8%. Dicho valor, tomado del acuerdo entre los dos métodos mencionados, es adecuado, dado que toda la humedad del jabón de aluminio se determinará de ese modo y casi ninguno de los demás componentes volátiles se eliminará del napalm.
- b. **Extracciones:** Para la extracción de napalm se utilizará acetona seca, y se procederá a una eliminación rápida del material soluble en las primeras porciones del solvente, seguido de una lenta y leve lixiviación en las sucesivas porciones.
- c. **Impurezas minerales:** El análisis de los típicos constituyentes minerales del napalm muestra la presencia, no solo de aluminio, sino también de sodio y sulfato. Atribuyendo todo el sodio a la presencia de sulfato de sodio y el exceso de sulfato al sulfato de aluminio, el promedio de impurezas minerales del 1.7%. No obstante, dicha estimación puede ser algo baja pues, por un lado, parte del sodio se disuelve fácilmente en iso-octano y estaría presente en forma de jabón ácido de sodio y, por otro lado, el material insoluble en hidrocarburos cuando se separó disolviendo napalm en gasolina, se centrifugó y se lavó a fondo parecía una mezcla muy heterogénea, principalmente sales de aluminio básicas mezcladas con una pequeña proporción de sulfatos normales de aluminio y sodio.
- d. **Nitrógeno:** Las determinaciones de nitrógeno Kjeldahl en dos muestras de napalm dieron 0.25 y 0.30%.
- e. **Jabón:** Aproximadamente el 90% del napalm es jabón. Los ácidos grasos que intervienen en la fabricación del mismo tienen un peso molecular medio de aproximadamente 233, de modo que el contenido medio de aluminio de los jabones di-tipo de estos ácidos sería del 5,30%. Añadir, además, que la mayor parte de un napalm típico tiene la composición de un di-jabón (AIOHR₂) y ello se debe al comportamiento similar del napalm y del dilaurato de aluminio puro con respecto a la difracción de Rayos X, con el agua y con hidrocarburos [5].

2.3. Consecuencias del napalm

Por un lado, una vez que se activa una bomba de napalm se produce una gran cantidad de monóxido de carbono. De esta manera, cuando el napalm se enciende, desoxigena rápidamente el aire disponible, provocando que el monóxido de carbono sustituya al oxígeno. Solamente un 0,4% de monóxido de carbono en una sola hora es fatal, dada la alta afinidad entre el monóxido de carbono y la hemoglobina, dificultando la respiración de las personas hasta provocarles la muerte [3].

Por otro lado, una bomba de napalm provoca graves quemaduras en las personas. De hecho, Kim Phúc, "la niña del napalm", sufrió graves quemaduras en la tercera parte de su cuerpo, desde la mano izquierda al resto del brazo, el cuello y la espalda. El fuego se adhirió a la piel de la niña durante mucho tiempo y le destruyó la piel hasta la capa de colágeno, quedándole cicatrices con un grosor cuatro veces mayor al de la piel normal. Además, a causa de sus terminales nerviosas quemadas, Kim Phúc sufre dolores, que son especialmente agudos con los cambios climáticos.

Actualmente, 45 años después, Phúc ha iniciado un tratamiento para el tejido quemado que reducirá los dolores que siente desde aquel día en el que fue fotografiada [6].



Fig. 2. Quemaduras sufridas por Kim Phúc años después de la Guerra de Vietnam.

3. EL USO DE ARMAS QUÍMICAS Y EL DERECHO INTERNACIONAL

El uso de armas químicas para combatir en las guerras no es un tema actual, dado que ya en el Derecho Romano se establecía que "no se debe hacer la guerra con armas envenenadas".

Hechos como los de la Primera Guerra Mundial en la que el ejército alemán lanzó una nube de gas clorado sobre el enemigo, o el empleo de napalm en varias guerras posteriores hicieron que miles de soldados muriesen en combate. Tras estos acontecimientos, se tomó consciencia sobre la gravedad del problema y es entonces cuando se firma el Protocolo de Ginebra en 1925, el cual prohíbe el empleo de armas químicas y biológicas, pero no prohíbe su fabricación. Dicho Protocolo no fue ratificado por Estados Unidos hasta 1974, utilizando por tanto bombas de napalm en la Guerra de Vietnam (1959-1975), así como en otros combates.

Más tarde, en 1993, se firma en París la Convención sobre la Prohibición del Desarrollo, Producción, Almacenaje y Uso de Armas Químicas y sobre su Destrucción y entró en vigor en 1997, complementando lo establecido en el Protocolo de Ginebra de 1925. Actualmente, casi todos los

países en el mundo se han suscrito a dicha Convención sobre armas químicas, esto es, 192 de 195 Estados reconocidos por las Naciones Unidas eran signatarios de la Convención y de los cuatro Estados que no lo son, uno ha firmado pero todavía no lo ha ratificado (Israel), mientras que tres Estados no lo han firmado (Corea del Norte, Egipto y Sudán del Sur).

Por último destacar la labor de La Organización para la Prohibición de Armas Químicas, la cual se encarga de vigilar el cumplimiento de las directrices de la Convención de París [7].

4. NAPALM COMO RECURSO ENERGÉTICO

Como hemos visto en el apartado anterior, se prohíbe la fabricación y el empleo de armas químicas (entre ellas el napalm) por los Estados firmantes de la Convención. No obstante, en los depósitos militares estadounidenses hay 3,4 millones de galones de napalm y su destino no se ha especificado aún. Aunque existen varias sugerencias acerca del destino de estas cantidades de napalm (eliminación, separación química de sus componentes, incineración o uso industrial), se ha investigado acerca de la posibilidad de utilizar napalm como fuente de energía.

En la investigación se consideró que, debido a la alta concentración de poliestireno, el napalm no se puede quemar directamente como combustible (las boquillas de pulverización de todos los quemadores funcionan con la electricidad); por otro lado, el punto de inflamación del napalm es muy bajo, lo cual es un riesgo de seguridad significativo tanto para el almacenamiento como para el uso. Además, los problemas de compatibilidad de combustible de napalm son significativos. Como se tuvieron en cuenta estas consideraciones, en dicha investigación se usó un combustible de destilado medio alto aromático junto con un codisolvente como diluyente. Con este material, se preparó el napalm disolviendo 43g de poliestireno en 20g de benceno. Tras la solución completa del poliestireno, se añadieron a la misma 37g de gasolina sin plomo. El napalm resultante se mantuvo a temperatura ambiente y aislado de toda fuente de ignición. A continuación, se prepararon las soluciones de napalm con 5%, 10% y 20% de napalm en peso, utilizando varios tipos de solventes y se mantuvo a temperatura ambiente durante una hora. Las muestras fueron analizadas con un Hewlett Packard HP, Modelo 6890 gc y sistemas de datos. Posteriormente, se hicieron pruebas de estabilidad de almacenamiento a las mezclas de combustible de napalm utilizando el método ASTM D5304-94. Finalmente, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y fueron probadas mediante una técnica gravimétrica.

Los resultados apuntaron a que el napalm se puede manipular y usar con seguridad como fuente de energía si se usa disuelto en combustibles de destilado medio y con la presencia de codisolventes aromáticos (tolueno o xilenos), que tienen puntos de inflamación más altos que los solventes de bajo peso molecular.

Por tanto, el napalm como recurso energético puede ser muy utilizado en la generación de energía eléctrica, en

plantas de calefacción central o en procesos industriales que requieren calor [8].

5. CONCLUSIONES

El napalm es una especie de jabón de aluminio mezclado con ácidos oleico, coco y nafténico que se añade a la gasolina, convirtiéndose en un arma letal, debido a que es altamente inflamable, se adhiere al objetivo y se mantiene encendida durante más tiempo. El uso que hizo Estados Unidos del napalm como arma química provocó la muerte de miles de civiles o dejó numerosas secuelas a los que sobrevivieron, como hemos visto en Kim Phúc.

Por lo que, en un principio, el napalm fue considerado un éxito para su fabricante, Fieser. No obstante, tras las graves consecuencias que provocaba el uso del napalm, actualmente es considerado un instrumento ruín con el que se puede hacer mucho daño.

REFERENCIAS

- [1] Web ABC: <http://www.abc.es/20120606/internacional/abc-foto-nina-napalm-201206061021.html> (Enlace web)
- [2] M. Neer, Robert. "Napalm. An American Biography". The Belknap Press of Harvard University Press Cambridge, Massachusetts, London, England, 2013, página 54.
- [3] <https://www.globalsecurity.org/military/systems/munitions/napalm.htm> (Enlace a Web)
- [4] Lemann, Nicholas. "Napalm's Daddy 31 Years Later", 1973.
- [5] J. Mysels, Karol. "Napalm. Mixture of Aluminum Disoap". Stanford University, California, 1949.
- [6] <https://www.unocero.com/noticias/ciencia/salud/la-nina-de-napalm-recibe-tratamiento-por-quemaduras-50-anos-despues/> (Enlace a web).
- [7] <http://noticias.juridicas.com/conocimiento/articulos-doctrinales/4929-el-uso-de-armas-quimicas-y-el-derecho-internacional/> (Enlace a web).
- [8] W. Mushrush. George, J. Beal Erna, R.Hardy Dennis, M. Hughes Janet. "Napalm as an energy resource: a study of the molecular weight distribution of polystyrene in napalm and its use in middle distillate fuels", Washington, 1999.



Elena Romero Rodríguez, estudiante del Doble grado en Derecho y Criminología en la Universidad Pablo de Olavide.

Células CAR-T: Una nueva terapia contra la leucemia

Miryam Moreno Gómez

Resumen—La leucemia linfocítica aguda es el tipo de cáncer más común en los niños menores de 15 años. Este artículo informa del uso y los fundamentos de una nueva terapia génica que ha sido aprobada por primera vez en EE.UU. en 2017 para combatir este tipo de cáncer. Así como de los inconvenientes de la misma y de un caso exitoso de su aplicación.

Palabras Claves— Leucemia, Terapia génica, Linfocitos T, Inmunología, CAR

1. INTRODUCCIÓN

La leucemia es una enfermedad que se caracteriza por una producción anormal de glóbulos blancos en la médula ósea debido a que dichas células sanguíneas salen de este tejido sin completar su maduración, con lo que no pueden desarrollar su función correctamente. Dichas células inmaduras son cancerosas y se acumulan en el torrente sanguíneo, generando un cáncer en la sangre [1].

Los cuatro tipos principales de leucemia son: linfocítica aguda, linfocítica crónica, mielógena aguda y mielógena crónica. La leucemia linfocítica afecta a los precursores de los linfocitos T y B en la médula ósea, mientras que la mielógena afecta a células mieloides (células precursoras de basófilos, neutrófilos, eosinófilos y mastocitos. En cuanto a la calificación de crónico o agudo, hace referencia a la cinética de la enfermedad de manera que una enfermedad crónica es aquella que se desarrolla lentamente y una enfermedad aguda lo hace rápidamente [1].

Cabe destacar la leucemia linfocítica por ser aquella que se corresponde con un aumento excesivo en la proliferación de linfocitos y el tipo de cáncer más común en niños menores de 15 años (siendo la probabilidad aproximadamente del 80%). Mientras que la leucemia mielógena hace referencia a niveles anormalmente altos de mieloblastos, la cual es la más común en adultos [2].

Se conoce que el cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo. De hecho, su diagnóstico en 2012 ascendía a 14 millones de personas y se estima un aumento de este número en un 70% en los próximos 20 años. Además, se conoce que en 2015 fallecieron 8.8 millones de personas por su causa [3]. En cuanto a la leucemia, representa un 3.7% de este total de casos de cáncer estimado en 2017 (62.130 pacientes) y provoca el 4.1% de las muertes por cáncer co-

rrespondientes (24.500 defunciones) [1].

Dado lo elevado de estos datos y estimaciones, se han llevado a cabo numerosas investigaciones en la búsqueda de un tratamiento adecuado, sobre todo para la población infantil.

2. TERAPIA CON CÉLULAS CAR-T

Cada año, la revista Nature's 10 destaca 10 personalidades relevantes en el mundo de la ciencia. En 2017 aparece entre ellas una niña de 12 años llamada Emily Whitehead. Se trata del primer niño en el mundo que ha recibido una inmunoterapia experimental contra la leucemia linfocítica aguda basada en el receptor CAR de linfocitos T. Convirtiéndose así en un testimonio viviente de la eficiencia del tratamiento que ha llevado a su aprobación en EE.UU. como terapia génica de uso común en la práctica médica [4, 5]. Es más, hoy en día se observa una remisión de este tipo de leucemia en el 70-90% de los casos, por lo que es una completa revolución en el tratamiento del cáncer [6].

3. FUNDAMENTOS DE LA TERAPIA

La Inmunoterapia con células CAR (del inglés "Chimeric Antigen receptor") consiste en la transferencia de células T con el objetivo de expresar receptores antigénicos quiméricos (CARs), lo cual se lleva a cabo mediante ingeniería genética. Estos receptores CAR constan de tres partes estructuralmente diferenciadas: un dominio extracelular de reconocimiento antigénico proveniente de inmunoglobulina, un dominio transmembrana, y un dominio intracelular correspondiente a una cadena CD3ζ que es la encargada de la transducción de señales de activación del linfocito T. Por lo tanto, el dominio extracelular aporta como ventajas la capacidad de modificar la especificidad de la célula CAR-T en función del antígeno de interés (normalmente, CD19 o CD20) y la independencia total de los complejos de histocompatibilidad (MHC) [7]. (Fig. 1)

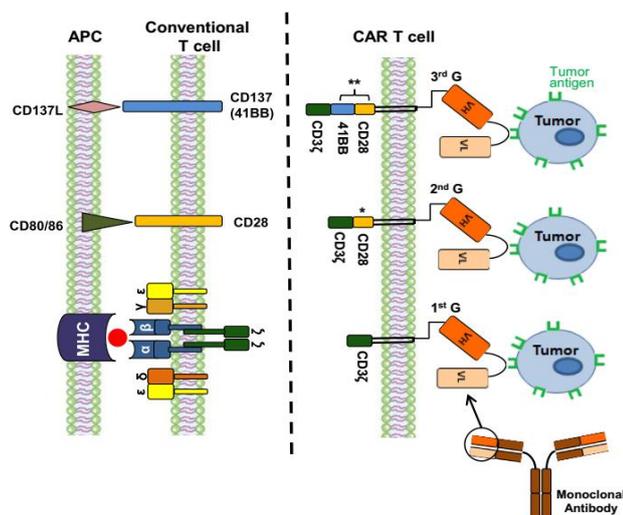


Fig. 1. Comparación de receptor TCR de un linfocito T a la izquierda con célula CAR-T a la derecha. Se puede observar la falta de necesidad del complejo de histocompatibilidad en la imagen de la derecha. Esto puede entenderse sabiendo que, si bien los linfocitos T precisan de un MHC que les presente un péptido antigénico para reconocerlo, el linfocito B es capaz de reconocer de manera directa la superficie del antígeno [9].

El proceso de generación de las células CAR-T consiste en la transfección de células T con virus inactivados portadores de la información genética necesaria para que, al transcribirse el gen y traducirse el mensajero, se produzcan los receptores CAR con la señal correspondiente para ser expuestos en la superficie celular en la orientación mencionada anteriormente. Dicho material genético se obtiene por ingeniería genética mediante fusión génica, es decir, mediante la ligación del gen que expresa el dominio extracelular en los linfocitos B y los genes que expresan los dominios intracelular y transmembrana en los linfocitos T [8].

Este tipo de célula CAR-T descrita fue la *primera generación* que se produjo. Eran capaces de responder ante el tumor, pero tenían una corta vida media y no se distribuían correctamente por el organismo vivo. El problema era que la activación de linfocitos T requiere de dos señales: una primera señal a través de CD3 y una segunda señal coestimuladora que no se estaba teniendo en cuenta. Por lo tanto, se desarrollaron una *segunda* y una *tercera generación* basadas en la coestimulación con otras moléculas para aumentar su eficacia [6, 7]. Estas moléculas son, por ejemplo, CD28 o 4-1BB [9]. La primera es esencial para la generación de IL-2 y, por ello, para el mantenimiento de la actividad antitumoral. Mientras que la segunda, también conocida como CD137, es un receptor del represor tumoral TNF α [10]. Esto aumenta la eficiencia de la terapia, pero también aumenta los problemas asociados a la misma.

4. EFECTOS ADVERSOS

Si bien la recuperación de Emily Whitehead fue exitosa y clave para la aprobación de esta técnica por parte de la FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos, en castellano), también tuvo sus dificultades. La joven sufrió el síndrome de liberación de citoquinas como reacción inmunológica ante el tratamiento [4, 5]. Dicho síndrome está asociado al uso de anticuerpos monoclonales y es consecuencia del aumento de la activación inmunológica del organismo, correlacionado por ello tanto con la toxicidad como con la eficacia del tratamiento [11]. Los síntomas que genera son: mialgia, fiebre, problemas de tensión, sudoración, taquicardia, cefalea, desórdenes respiratorios... y finalmente la muerte. [12]. Entre las citoquinas liberadas cabe destacar las interleuquinas 10 y 6. Es por ello que se suele administrar *Tocilizumab* al paciente, un antagonista del receptor de IL-6, con el objetivo de tratar este síndrome evitando el uso de corticoides [13].

Otro de los posibles problemas relacionados con la terapia génica basada en células CAR-T es la aplasia de células B, es decir, un desarrollo disminuido o nulo de las mismas. Esto se puede revertir mediante terapia de reemplazamiento de inmunoglobulinas por vía intravenosa [6].

Finalmente, cabe mencionar la existencia de una probabilidad elevada de desarrollo de toxicidad neurológica. Una anomalía derivada del tratamiento génico de la leucemia que hoy en día se encuentra bajo estudio para poder revertirlo o evitarlo en un futuro [6].

4. PROCEDIMIENTO CLÍNICO

La terapia génica con células CAR-T es personalizada, es decir, se realiza con células obtenidas directamente de cada paciente. Los pasos a seguir para someter a un paciente a la terapia son los que siguen (Fig. 2):

1. Extracción de sangre, aislamiento de sus glóbulos blancos e inyección del resto de sangre en el paciente. Así como producción de CAR contra el antígeno de interés.
2. Activación de los linfocitos T in vitro y transducción del CAR. De manera que los linfocitos T contengan finalmente la cantidad necesaria de CAR en su superficie como para haber visto modificada su especificidad inicial.
3. Expansión de las células CAR-T in vitro para aumentar su abundancia.
4. Sometimiento del paciente a quimioterapia en un intento por producir linfodepleción, lo cual potencia la expansión y persistencia de las cé-

lulas CAR-T in vivo a la vez que reduce su toxicidad.

5. Puesta a punto de las células CAR-T y re-infusión en el paciente en cierta relación CD4+/CD8+. [6]
6. Ya en el cuerpo humano, los receptores de CAR-T van a reconocer las células cancerosas e iniciar un proceso que acaba destruyendo

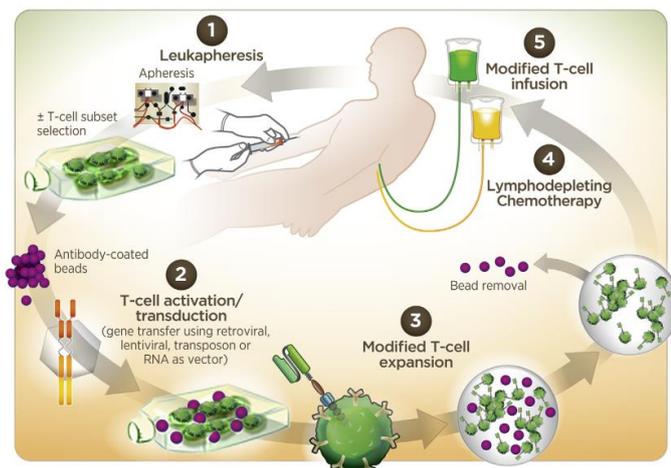


Fig. 2. Esquema del procedimiento a seguir en la administración de terapia génica basada en células CAR-T [6].

dichas células del cáncer. Además de ejercer un papel de prevención ante dicho tumor debido a que permanecen cierto tiempo en el organismo [8].

6. CONCLUSIONES

La terapia génica con células CAR-T se muestra como una técnica innovadora y prometedora en el campo de la lucha contra la leucemia linfocítica aguda en niños. Si bien es cierto que genera algunos efectos adversos que pueden ser letales, la ciencia se encuentra solo al comienzo del camino que esta terapia ofrece. Un camino de medicina personalizada que, con las optimizaciones correctas, podría resultar en una cura de este tipo de cáncer.

REFERENCIAS

[1]. Web del Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia>

[2]. Web de la Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU. <https://medlineplus.gov/spanish/leukemia.html#summary>

[3]. Web de la Organización Mundial de la Salud. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>

[4]. Web de la Sociedad Española de Inmunología. http://www.inmunologia.org/investigacion/home.php?U_pfqym5uom=EH#3789

[5]. Web de la Revista Nature's 10. <https://www.nature.com/immersive/d41586-017-07763-y/index.html> (Enlace web).

[6]. Frey, N. (2017). The what, when and how of CAR T cell therapy for ALL. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 30(3), 275-281.

[7]. Gamberale, R. (2014). CAR T cells: Fundamentos de esta prometedora terapia inmunológica. *Sociedad Argentina de Hematología*, 18, 28-31.

[8]. Págnia web de la Sociedad de Leucemia y Linfoma: <http://www.lis.org/treatment/types-of-treatment/immunotherapy/chimeric-antigen-receptor-car-t-cell-therapy>

[9]. Wang, X., Xiao, Q., Wang, Z., & Feng, W.L. (2017). CAR-T therapy and challenges. *Translational Research*, 182, 135-144.

[10]. Vinay, D. S., & Kwon, B. S. (2014). 4-1BB (CD137), an inducible costimulatory receptor, as a specific target for cancer therapy. *BMB Reports*, 47(3), 122-129.

[11]. Maude, S. L., Barrett, D., Theachey, D. T., & Grupp, S. A. (2014). Managing Cytokine Release Syndrome Associated with Novel T Cell-Engaging Therapies. *Cancer Journal, National Institutes of Health (NIH)*, 20(2), 119-122.

[12]. Roldán, Q. F. J. (2017). Reacciones de infusión. *Instituto de Salud Pública del Gobierno de Chile*, 9, 1-9.

[13]. Frey, N. V., & Porter, D. L. (2016). Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia. *American Society of Hematology Education Program Book*, 2016 (1), 567-572.



Miryam Moreno Gómez ingresó en el grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide en 2014 y actualmente se encuentra en cuarto curso. Complementa sus estudios con prácticas en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo.

La química al servicio del Holocausto

Marta Jurado Fortes

Resumen—En esta publicación exponemos algunos datos clave de cómo la química sirvió como arma letal al régimen Nazi de Adolf Hitler. Nos centraremos en describir los elementos mediante los que el nazismo se benefició de los avances científicos en el campo de la química y aquellos con los que las empresas de la industria química hicieron su particular negocio. Por último, damos algunos apuntes acerca de cuánto tuvo que ver la potente industria química alemana de la época en los crímenes del Holocausto y dejamos abiertas algunas puertas para que el lector pueda valorar qué hubiera pasado si esta colaboración no se hubiese producido.

Palabras Claves—Química, Holocausto, IG Farben, Zyklon B, Monowitz.

1. INTRODUCCIÓN

Aunque todavía haya algunos sectores de la sociedad que se empeñen en negar el Holocausto Nazi los juicios de Nuremberg [1] fueron explícitos al respecto: el genocidio de millones de personas ocurrió y lo cierto es que este crimen se produjo durante la Segunda Guerra Mundial en campos de concentración dirigidos por el Tercer Reich Alemán.; sólo en Auschwitz- Birkenau aproximadamente 1,5 millones de personas, la mayoría judíos, fueron asesinados masivamente mediante el empleo de cianuro de hidrógeno (conocido como Zyklon B); además, algunos médicos alemanes obligaron a miles de prisioneros de los campos de concentración a someterse a experimentos “científicos”, dolorosos y mortales en los que la química estuvo muy presente [2]. En este artículo nos proponemos desvelar y aunar todos los detalles que se conocen de esta relación: química y Holocausto Nazi; y dar una visión global de cómo la química sirvió a los intereses de una guerra y de una ideología cuyas víctimas aún sufren las consecuencias [3], [4]. Sin embargo, queremos puntualizar que no nos detendremos a explicar cuestiones históricas, que ya pertenecen al dominio público, más que en lo imprescindible.

2. LA QUÍMICA DURANTE EL RÉGIMEN NAZI

2.1. La química en los inicios del régimen

Lo cierto es que cuando Hitler llegó al poder en 1933, la industria de los fármacos y de los colorantes estaba centrada por completo en Alemania [3]; la industria química de Alemania era responsable de aproximadamente el 20% del ingreso nacional del país [5]. Bayer¹ era la dueña de la patente de la aspirina, había introducido la heroína en el mercado de consumo (para ser sustituto de la morfina que producía adicción) y era la creadora de la metadona (a la que llamó Dolphine en honor a Adolf Hitler) [6].

El apogeo de la química alemana en la época hizo que, en el momento en el que el Nacionalsocialismo se hizo con el gobierno del Tercer Reich alemán, en el país hubiese unos 15.000 químicos, de los cuales cuatro de los seis

premios Nobel alemanes en química y varios miembros de alto perfil de la asociación académica DChG, eran de origen judío. Todos ellos fueron requeridos a presentar sus renuncias. Además, la búsqueda de la pureza de la raza aria hizo que en las organizaciones académicas de químicos y bioquímicos no se volvieran a admitir judíos, eliminándose los miembros judíos preexistentes [5].

2.2. La ciencia al servicio del Nacismo

Pero el auge de la ciencia no sólo se vio reflejado en cuestiones ideológicas. Durante el Tercer Reich la obsesión por cumplir los objetivos expansionistas y antisemitas del régimen llevaron a que los campos de concentración se convirtieran en espacios, no solo de trabajo, explotación y muerte, sino también en lugares para la experimentación científica. Así pues, los experimentos científicos que fueron llevados a cabo durante el Tercer Reich utilizando a los prisioneros como cobayas de laboratorio se podrían dividir entre: aquellos tratamientos médicos contra la hipotermia o la congelación, dirigidos a facilitar la supervivencia de los militares; otros encaminados a demostrar la superioridad de la raza aria y la “inferioridad racial judía.”, además de otros principios raciales nazis. Entre ellos, los experimentos médicos con gemelos; experimentos serológicos con romaníes (gitanos), etc. Por último, aquellos relacionados con el tema que nos atañe, experimentos que perseguían el desarrollo y comprobación de productos farmacéuticos y de métodos de tratamiento: tales como inmunización y sueros para la prevención y tratamiento de enfermedades contagiosas (la malaria, el tifus, la tuberculosis, la fiebre tifoidea, la fiebre amarilla y la hepatitis infecciosa); experimentos para probar la eficacia de las droga sulfanilamida y experimentos con fosgeno y gas mostaza para probar los posibles antidotos [4].

Para todo ello se sirvieron de médicos, químicos y físicos que llegarían a convertirse en los verdaderos aliados del régimen. En alguna de las declaraciones hechas por el propio Hitler se podía ver cómo los consideraba imprescindibles dentro de su propia guerra contra los enemigos del régimen [7].

¹ Empresa químico-farmacéutica alemana fundada en Barmen, Alemania en 1863 que a día de hoy sigue cotizando en Bolsa.

2.3. La industria química al servicio de Hitler

Sin embargo, la verdadera relación entre química y nazismo no fue muy evidente hasta que el país se fue aislando y dejó de disponer de materias primas. Fue en ese momento cuando la química empezó a ser fundamental para Hitler y cuando las empresas de la industria química vieron su verdadera oportunidad de negocio. El régimen necesitaba nuevas técnicas para producir alternativas sintéticas al caucho y petróleo e IG Farbenindustrie AG² tenía la solución [5].

IG Farben se convertiría para siempre en el mayor agente financiero del partido nazi cuando la empresa química aseguró poder fabricar gasolina artificial que el "Führer" podría utilizar para comenzar la guerra [6]. La empresa química cooperó con los funcionarios nazis hasta tal punto que se le permitía elegir entre todas las plantas químicas de países ocupados como Checoslovaquia y Polonia para que les fueran entregadas [8].

Con el desarrollo de la guerra IG fue requerida para preparar al ejército ante el ataque de Rusia. A la vista de tal requerimiento IG decidió que necesitaría construir un complejo químico gigante en el Este, además del posible negocio que la compañía visualizaba en la zona. El lugar elegido fue Auschwitz, en el sur de Polonia ya que era un lugar estratégico para la industria porque tenía minas de carbón cerca que proporcionarían la principal materia prima; tres ríos y una autopista y una línea ferroviaria pasaban por la zona; y, por último, IG partía de la idea de que sólo la mano de obra de esclavos podría cumplir con sus necesidades y la S. S. ya tenía un pequeño campamento allí que estaba planeando expandir, por lo que en este punto de la Polonia ocupada se concentraba todo lo que la planta química de IG iba a necesitar para cumplir el encargo. Esta planta sería la más grande de todas las que tenía la firma por lo que, con la aprobación de Hitler nació Auschwitz tal como lo conocemos.

Auschwitz consistió en cuatro unidades en las que: Auschwitz I era el pequeño campo original de la S. S. que se expandió para poder concentrar a cientos de miles de prisioneros a la vez. Este primer campo fue ubicado, aproximadamente, a cuatro millas de los principales sitios de producción. Auschwitz II - Birkenau fue el centro de exterminio con cámaras de gas y crematorium. Auschwitz III fue la planta de combustible sintético y caucho. Y Auschwitz IV fue propiedad de I. G. y el campo de concentración conocido como Monowitz.

En un principio los prisioneros que llegaban al campo de la SS eran clasificados en aptos para el trabajo en la planta de IG o no aptos. Los aptos iban y venían a diario de la planta. Sin embargo, a mediados de 1942, los altos mandatarios de I. G. se dieron cuenta de que las cosas no iban bien en la construcción de la planta porque el núme-

² IG Farbenindustrie AG fue una empresa que reunió a varias marcas de la industria química alemana bajo el mismo cartel y el mismo bolsillo el 25 de diciembre de 1925 después de que las industrias químicas más importantes de Alemania se dieran cuenta de que tenían el dominio absoluto del mercado mundial de colorantes y fármacos, lo que implicaba que se estaban haciendo la competencia entre ellas mismas por lo que decidieron aliarse fusionándose bajo este nombre las compañías BASF, Bayer, Hoechst (incluyendo Cassella y Chemische Fabrik Kalle), Agfa y Chemische Fabrik Griesheim-Elektron y Chemische Fabrik vorm. Weiler Ter Meer [3] [8].

ro de trabajadores que recibían estaba por debajo de sus requisitos, y los que efectivamente llegaban no rendían lo suficiente. Para solucionar este problema IG propuso a Hitler quedarse con la propiedad absoluta del campo que rodeaba la planta, denominado Monowitz, en el que la propia compañía seleccionaría a los prisioneros y los sometería a una disciplina y unas condiciones de vida tan duras como la de Auschwitz. Con la aprobación de la propuesta por parte de Hitler, IG aumentaría las ganancias de la compañía [3].

2.4. El negocio de la química del Holocausto

Nada tiene que ver la instalación de la planta con el asesinato masivo que se producía en los campos desde que se instauró la "solución final" y en la que la química fue el arma básica.

En un primer momento el exterminio fue llevado a cabo en furgonetas en las que los prisioneros eran gaseados con monóxido de carbono del tubo de escape. Sin embargo, pronto las camionetas se convirtieron en demasiado pequeñas y se desarrollaron las grandes cámaras en las que se gasearían a los prisioneros con monóxido de carbono. Pero pronto el monóxido pasó a considerarse demasiado lento.

El S. S. había estado usando un producto llamado "Zyklon B" que producía la marca Degesch (propiedad de I. G.), como insecticida. Zyklon B era cianuro de hidrógeno que se vendía con un aditivo con un olor característico que alertaría de su presencia. Este gas letal fue utilizado en cámaras de gas en las prisiones de los Estados Unidos, por eso, cuando Dagesh fue requerido por la SS para venderles el producto sin el aditivo ni la etiqueta, dudó en hacerlo porque sabía de las intenciones. Sin embargo, I. G. sabía que perderían mucho dinero si no proporcionaban el gas. La historia a partir de aquí es conocida por todos [3].

2.5. Otras líneas de investigación

Un apunte que no querría dejar pasar es que durante los juicios de Nuremberg, fueron puestos ante el tribunal cientos de químicos pertenecientes a estas empresas aliadas del régimen, sin embargo, la mayoría fueron condenados a penas muy leves y otros salieron impunes por falta de pruebas [1], sin embargo, las manchas en la historia no se pueden borrar tan fácilmente, o sí, porque lo que sí es cierto, es que, por increíble que resulte, algunas de estas empresas que sirvieron al régimen y fueron tan culpables de los crímenes del Holocausto como los propios Nazis siguen hoy día haciendo negocio en nuestros mercados nacionales pasando absolutamente desapercibidas.

Por último, no nos podemos olvidar de que aunque en este artículo hayamos podido dar algunos atisbos de esa relación entre química y Holocausto Nazi, sin embargo, como ya hemos expresado, este es un tema que no acaba aquí; para mucho daría hablar de cómo las drogas que consumían Hitler y sus tropas jugaron un papel fundamental en la ofensiva Nazi durante la Segunda Guerra Mundial, un tema que últimamente ha sido noticia de muchos periódicos internacionales [9]; u otros temas tales

como el que ha destapado el secretario de prensa de la Casa Blanca, Sean Spicer, quien ha sido duramente criticado al manifestarse acerca de la postura que Hitler tomó en su día de no usar armas químicas, refiriéndose a los gases nerviosos que el Führer tenía en su poder[10], [11].

3. CONCLUSIONES

Por todo lo que hemos expuesto, es innegable que en esta ocasión, y una vez más, la ciencia, sirvió como arma de doble filo al ponerse en relación con la política e hizo historia. Industrias químicas como IG Farben fueron una parte importante del Holocausto demostrando como la química puede llegar a deshumanizarse tanto como para tomar un papel fundamental en una guerra en la que no hubo vencedores, solo vencidos y, como siempre, por un beneficio económico que jamás merece la pena. Hitler, contó desde el principio con una industria química dispuesta a todo por hacer un negocio sin escrúpulos, una industria que, sin duda, fue su mano derecha. Aliados que de no haber participado, quizás, hubieran impedido ciertas cosas que conforman lo que hoy llamamos Holocausto, o al menos dificultado, o no, quién sabe.



Marta Jurado Fortes, estudiante de Quinto curso del Doble Grado de Derecho y Criminología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

REFERENCIAS

- [1] Web de Profit Over Life. <http://www.profit-over-life.org/rolls.php?roll=97&pageID=760&expand=no>
- [2] R. J. Green, "The chemistry of Auschwitz", Web de The Holocaust History Project, <http://phdn.org/archives/holocaust-history.org/auschwitz/chemistry/>, 1998.
- [3] W. B. Smith, "Chemistry and the Holocaust", Journal of Chemical Education, Vol. 59 (10), p. 836, Texas Christian University, Forth Worth. TX 76129, 1982.
- [4] Web de United States Holocaust Memorial Museum, Washington DC. <https://www.ushmm.org/wlc/es/article.php?ModuleId=10007227>
- [5] S. Everts, "Chemistry in Nazi Germany", Chemical & Engineering News, Vol. 91, Issue 37, pp. 30-33, American Chemical Society, <https://cen.acs.org/articles/91/i37/Chemistry-Nazi-Germany.html>, September 16, 2013.
- [6] Web de La Segunda Guerra. <http://www.lasegundaguerra.com/viewtopic.php?t=1987>
- [7] Web de Historia virtual del holocausto. <http://www.elholocausto.net/parte03/experimentos.htm>
- [8] Web de Wikipedia de IG Farben. https://es.wikipedia.org/wiki/IG_Farben
- [9] Web de la BBC Mundo. <http://www.bbc.com/mundo/noticias-40978635>
- [10] Web de la BBC Mundo. <http://www.bbc.com/mundo/noticias-internacional-39572980>
- [11] S. Everts, "The Nazi origins of deadly nerve gases", Chemical & Engineering News, Vol. 94, Issue 41, pp. 26-28, American Chemical Society, <https://cen.acs.org/articles/94/i41/Nazi-origins-deadly-nerve-gases.html>, October 17, 2016.

Venenos: el arma femenina por excelencia

Laura Botella Atienza

Resumen— A lo largo de la historia del fenómeno de la criminalidad los venenos han sido unas de las armas clave, sobretudo en delitos como el asesinato. Digo clave no tanto por su composición y naturaleza, sino por su peculiaridad como herramienta del crimen: nisiquiera las propias víctimas sabían que estaban siendo asesinadas. En este artículo analizaremos los tipos de venenos más utilizados para los crímenes, sobre todo por el género femenino.

Palabras Claves— Asesinatos, Armas, Criminalidad, Mujeres, Venenos.

1. INTRODUCCIÓN

¿Sabemos realmente lo que es el veneno? ¿Cómo nace el fenómeno criminal del veneno? Comúnmente, el veneno es conocido por ser una sustancia, planta o cualquiera que sea su naturaleza tóxica para el cuerpo cuando se introduce en nuestro organismo.

Sin embargo, su verdadera definición es “aquella sustancia que al ser ingerida, absorbida o inyectada con una determinada dosis en el cuerpo y en pequeñas cantidades causa un daño estructural o una alteración funcional en el individuo”. Pero hay dos puntos claves en esta definición: Debe ser suministrado siempre en pequeñas cantidades y que el veneno no es la sustancia cómo tal, sino en las dosis que administramos, así lo dijo Paracelso (1493-1541) “el veneno está en la dosis”. [1] A simple vista, hay compuestos como la morfina, que son administradas en hospitales, pero que si no aplicamos la dosis justa, podríamos llegar a morir. [2]

2. HISTORIA Y VENENOS UTILIZADOS

2.1. Antecedentes históricos, la cicuta.

Pues bien, el uso del veneno como herramienta del crimen nace en los años pertenecientes al período de la Antigua Grecia (1200 a. C.-146 a. C.) donde las principales envenenadoras eran mujeres, pero esto lo explicaremos más adelante. [3] La llamada **cicuta** (**Conium maculatum**) fue uno de los métodos de ejecución más utilizados de la época.

Un importante dato a destacar es la muerte del gran filósofo griego Sócrates a manos de este veneno. En la cicuta, se encuentra la llamada cicutina, que es un alcaloide venenoso. Al mismo tiempo, la conina es un alcaloide volátil y se trata del principio activo más importante de esta planta en la que principalmente el efecto fundamental que despliega es que actúa como un profundo sedante para el organismo. La cicuta afecta principalmente al sistema nervioso central, lo inhibe provocando así convulsiones, midriasis y el coma, empezando por simples cefaleas y terminando finalmente en el bloqueo mus-

cular seguida de una parálisis total.

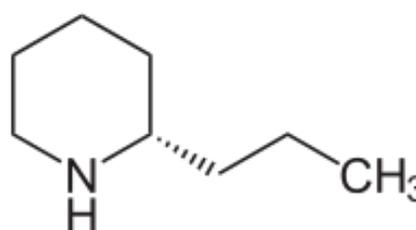


Fig. 1. Composición química de la cicuta.

Pocos gramos de su fruto son suficientes para lograr matar a un ser humano. La mayor toxicidad de esta planta se concentra en su fruto, de un característico color verde. Es originaria del Norte de África y Europa y crece en ambientes húmedos y frescos como en las orillas de los ríos, arroyos y en los bordes de los caminos. Con este fruto se empezó a descubrir, que poco hacía falta verdaderamente para lograr matar a una persona. Desde entonces, el veneno fue mirado como una herramienta sencilla para tal fin, que no dejaba rastros ni ensuciaba las manos. [4]

2.2. El acqua Tofana

Desde ese momento, el uso del veneno como medio de ejecución fue cogiendo fuerza, tanto que incluso se ha convertido en una de las herramientas por excelencia de las mujeres con el fin de acabar con la vida de una persona, normalmente de sus maridos o hijos. Es en la época del Renacimiento donde el veneno tiene sus mejores exponentes ya que quien poseía algún tipo de veneno estaba directamente relacionado con el poder y la riqueza. En este contexto destacamos a **Giulia Toffana** autora de la llamada “**acqua tofana**” llegando a matar a unas 600 personas.

L’acqua tofana es el veneno que utilizaban las mujeres de la época para deshacerse principalmente de sus maridos. Algunos de los compuestos del acqua tofana son conocidos, pero no la dosis exacta de cada uno de ellos. Se compone así principalmente de **arsénico** y **plomo**, venenos de origen mineral. Asimismo, es probable que tam-

bién contuviese **belladona** que por al contrario del arsénico y el plomo, es de origen vegetal de la que destacamos dentro de su composición, tres alcaloides derivados del tropano (hiosciamina, atropina y escopolamina). Desde los tiempos del renacimiento, ya podemos ir perfilando cuales han sido siempre los venenos más utilizados, como el arsénico.[5]

2.3. El arsénico

El arsénico es un elemento de la tabla periódica cuya simbología se representa como "As". En su forma natural, podemos encontrarlo como un mineral de cobalto, aunque por lo general se encuentra en la superficie de las rocas combinado con azufre o metales como el Fe, Ag o Sn. Como bien hemos dicho con anterioridad, es uno de los venenos más tóxicos. Hay diferentes vías de exposición a través de las cuales el ser humano puede estar expuesto al arsénico: tanto por el aire, como por la ingesta de comida y agua y por supuesto en contacto con la piel si nos encontramos con agua u residuos del suelo que a su vez estén contaminadas por este compuesto.[6]

Un caso a destacar sin duda es el de la famosa **Mary Ann Cotton**, una asesina inglesa condenada y ejecutada por envenamiento con arsénico a tres de sus cuatro maridos, once de sus hijos e incluso a su madre. Su carrera delictiva como asesina en serie se centró en el periodo de 1852 a 1870. Se le catalogó como la primera asesina en serie de Inglaterra de aquellos tiempos.[7]

2.4. El cianuro

El cianuro es un anion de tipo monovalente, el cual se representa bajo el símbolo "C-N" y se forma por un carbón unido a un nitrógeno a través de un triple enlace. A este grupo de compuestos se les conoce con el nombre de nitrilos y esto puede dar origen a moléculas de tipo gaseoso, como el cianuro de hidrógeno (HCN) o cloruro de cianogeno (CNCl). Es un tóxico bastante potente ya que su principal mecanismo de acción es la inhibición del complejo de citocromo C Oxidasa, una enzima muy importante con un mecanismo muy complejo, que básicamente actúa como catalizadora del último paso en la cadena de transporte de electrones, transfiriendo electrones a una molécula de oxígeno reduciéndola a dos moléculas de agua y esto se traduce a un efecto perjudicial para el organismo.[8] Su nocividad por tanto, radica en el poder de bloquear la función del oxígeno en el organismo, bloquea la cadena transportadora de electrones, es decir, la respiración de las células.[9]

Uno de los casos más relevantes de envenamiento por cianuro es el de la famosa **Yiya Murano** (1979) en Argentina, la cual envenenó con cianuro a más de cuatro individuos, en concreto se supo que utilizó este elemento porque en la posterior autopsia se reveló. Asimismo, se confirmó más adelante en la inspección el resto de cuerpos, ya que las evidencias biológicas no las podía eliminar.[10]

2.5. Clonazepam

El clonazepam es un fármaco perteneciente al grupo de las bezondiazeponas y su principal actuación es sobre el sistema nervioso central. La eliminación de esta sustancia es lenta debido a que los metabolitos que la componen son de larga duración en el cuerpo. Normalmente el clonazepam se utiliza para trastornos de ansiedad o de sueño entre otros muchos de sus usos farmacológicos.[11]

Si esta sustancia se usa indebidamente puede llegar a ser muy tóxica, porque como bien llevamos diciendo el veneno no es la sustancia sino la dosis. Un caso real y actual de la utilización de la misma como veneno es la de la conocida es **Verónica Elisabeth P.M**, de nacionalidad ecuatoriana más conocida como la "**envenenadora del beso**". Pues bien, fue detenida por asesinar a su marido Juan Gil en marzo de 2009 tras suministrarle una mezcla de sustancias letales, entre ellas incluida el clonazepam y la doximalina en fuertes dosis.[12]

2.6. Zolpidem

El zolpidem es una sustancia química, utilizada comúnmente como un fármaco que se utiliza principalmente para tratar el insomnio, pertenece a un tipo de medicamentos denominados "sedantes hipnóticos". El uso abusivo de esta sustancia puede llegar a provocar efectos adversos en el individuo, como depresión del sistema nervioso central o somnolencias tales como llegar al coma.[13]

Francisca Ballesteros, conocida como "**la envenenadora de Melilla**" asesinó tanto a su primogénita como a su marido a manos de esta terrible componente. Tuvo tanta repercusión que llegó a todos los medios de comunicación incluso teniendo cabida en una serie de televisión producida por Televisión Española.[14]

3. CONSIDERACIONES FINALES: ASPECTOS LEGALES Y ACTUALES

3.1 Consideraciones legales

Hemos visto, a lo largo de todo este artículo como las mujeres envenenadoras han utilizado este recurso como su principal medio de ejecución, pero...¿Por qué motivo? Pues principalmente porque el veneno es un arma letal, que utilizado en pequeñas dosis y bien distribuido a manos del infractor, consigue un desconocimiento por parte de la víctima que está siendo intoxicada.

Igualmente, aportando un plano orientado a la aproximación de los conocimientos forenses y legales de este artículo, explicaremos las consecuencias y repercusiones legales del uso del veneno como arma. La acción que ejerce el delincuente en el momento que decide envenenar a la víctima y acabar con ella constituye y da lugar al tipo

delictivo del asesinato. El **asesinato** es un delito que atenta contra el bien jurídico de la vida de una persona física, una acción típica antijurídica, culpable y punible. Se recoge en el Código Penal bajo la rúbrica “del homicidio y sus formas” art 138 y 139.1.

¿Pero por qué un asesinato y no un homicidio? Sencillamente porque el envenenamiento se considera un medio **alevoso**, deja a la víctima completamente en una situación de indefensión.[15] Precisamente que la víctima no tenga oportunidad alguna de defensa es lo que le confiere el carácter alevoso al tipo penal, transformando el homicidio en asesinato (un homicidio calificado). La alevosía es por tanto, una circunstancia agravante de la responsabilidad criminal que por consiguiente eleva la pena impuesta en una sentencia condenatoria.[16]

3.1 Consideraciones finales

Como bien hemos podido comprobar a lo largo de todo este artículo, en el Renacimiento, el veneno era utilizado como un arma de homicidio a gran escala puesto que era algo nuevo y novedoso que nadie conocía, llegando a poder asesinar a un gran número de personas (aprox. 600) sin levantar sospechas como es el caso de Giulia Toffana. Sin embargo, con el paso del tiempo se comenzó a utilizar de una manera más discreta y en un ámbito más íntimo como es el caso de las últimas mujeres tratadas en este artículo las cuales solo asesinaban a sus seres más allegados (maridos, hijos). Evidentemente la muerte por envenenamiento fue más estudiada no solo como una estrategia criminal de asesinato sino también bajo un plano médico-forense detectándose el veneno en autopsias.

Debemos tener también en cuenta que tanto los tipos de criminalidad como los métodos de ejecución cambian. Actualmente la obtención y fabricación estas sustancias tóxicas está mucho más restringida, lo que obliga a las mujeres a recurrir a otro tipo de armas (armas de fuego, armas blancas) así tal y como reflejan las estadísticas oficiales [17]



Fig. 2. Gráfico de métodos de asesinato

4. CONCLUSIONES

Cualquier sustancia utilizada indebidamente podría ser utilizada como un tóxico, ya que ésta puede ser cualquier sustancia que según la dosis causa un efecto perjudicial para nuestro organismo.

El género femenino es la máxima representación del asesinato por estos medios, debido a las indudables condiciones físicas que nos diferencian. Todas cometen sus crímenes de forma premeditada y fría, donde se denota el claro ánimo de matar. Desde la antigüedad hasta nuestros días, siguen habiendo asesinatos de este tipo de la cual apenas la Justicia tiene información, ya que los datos que nos proporcionan internet o los artículos periódicos no se corresponden con las estadísticas oficiales, por lo que también podemos deducir que en este tipo de asesinatos hay una enorme cifra negra de la criminalidad. No obstante, los utensilios usados por las mujeres a medida que la sociedad evoluciona se transforman, siendo el veneno en gran parte sustituido por otros métodos más accesibles a día de hoy. En general los tóxicos (ya sean venenos o drogas de abuso) son un gran determinante dentro de la criminalidad actual y por ello cada vez más obtenerlos resulta bastante complejo (drogas, medicamentos sujetos a prescripción médica). Esto da lugar a que las mujeres hayan modificado con el paso del tiempo su *modus operandi*, quedando el veneno así, en un plano más alejado y recordándolo en sus orígenes como el promotor de la criminalidad femenina.

REFERENCIAS

- [1] Trabajo de: Gonzalez Martín Carmen. Del veneno al nanotóxico: ¿Dosis sola facit venenum? CEU Universidad San Pablo. http://dspace.ceu.es/bitstream/10637/8783/1/LMagistral_CEU_SanPablo_CGonzalezMartin_2017.pdf
- [2] Web de narconon: <http://www.narconon.org/es/consumo-de-drogas/morfina-efectos.html>
- [3] Artículo de Calderón Sánchez Macarena, “Las Drogas en Grecia y Roma” Web de la Vanguardia: http://www.lavanguardia.com/historiayvida/las-drogas-en-grecia-y-roma_11222_102.html
- [4] Romero Sara. “Las plantas más venenosas del mundo”. Web de muy interesante. <https://www.muyinteresante.es/naturaleza/fotos/las-plantas-mas-venenosas-del-mundo/el-arbol-de-la-muerte-hippomane-mancinella>
- [5] Artículo de Velasco de la Fuente Paz, “Arma de mujer: veneno, el asesino silencioso”. <http://criminal-mente.es/2016/04/04/arma-de-mujer-veneno-el-asesino-silencioso/>
- [6] Web de Lenntech. <https://www.lenntech.es/periodica/elementos/as.htm>
- [7] Web de Perú. <https://peru.com/actualidad/historias-de-crmenes/mary-ann-cotton-cartas-que-escribio-asesina-serie-fotos-noticia-241184>
- [8] Web de Google Books. https://books.google.es/books?id=p3DCb9ITLx8C&pg=PA573&lpg=PA573&dq=citocromo+c+oxidasa&source=bl&ots=YOWMVTpGXP&sig=2ocsfoINxxMFsq_IDcVS0zxpsOg&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjcl6s5KPZAhWMWBQKHUQ0Am0Q6AEInwEwEQ#v=onepage&q=citocromo%20c%20oxidasa&f=false M. Delvin Thomas, Bioquímica: “Libro de texto con aplicaciones clínicas”
- [9] Artículo de Mendez Ángeles, “El cianuro”: <https://quimica.laguia2000.com/atomo/cianuro>
- [10] Artículo de la nación. Gustavo Carbajal “Yiya Murano” Web de la nación <https://www.lanacion.com.ar/1894313-yiya->

- murano-del-mito-de-envenenar-con-masas-a-ser-la-autora-de-mas-crime-nes
- [11] Web de Pediamecum. <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Clonazepam.pdf>. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría.
- [12] Artículo del ABC. Serrano Maria Isabel, "la envenadora del beso". <http://hemeroteca.abc.es/nav/Navigate.exe/hemeroteca/madrid/abc/2010/10/14/048.html>
- [13] Web de salud. <http://www.salud180.com/sustancias/zolpidem-hemitartrato-de>
- [14] Web de luz de melilla: <http://www.luzdemelilla.es/index.php/sociedad/item/10274-el-caso-de-la-envenenadora-de-melilla-manana-en-tve>
- [15] Código Penal Español
- [16] Muñoz Conde, Francisco (2017). *Derecho penal parte especial*. 21 st ed. Valencia: Tirant lo Blanch
- [17] Web del Consejo General del Poder Judicial: <http://www.poderjudicial.es/cgpj/es/Temas/Estadistica-Judicial/Estadistica-por-temas/Datos-penales--civiles-y-laborales/Violencia-domestica-y-Violencia-de-genero/Victimas-mortales-de-violencia-de-genero-y-violencia-domestica-en-ambito-de-la-pareja-o-ex-pareja/>

Laura Botella Atienza, estudiante de Quinto curso del Doble Grado de Derecho y Criminología. Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.



Estafas millonarias: El arte bajo ojo químico

Irene Serrano Ron

Resumen—Las falsificaciones artísticas son un mercado creciente en nuestra sociedad dado el alto nivel de ganancias que generan. Es por ello que los laboratorios criminalísticos y entidades especializadas vienen desarrollando desde hace tiempo diferentes técnicas científicas que puedan complementar a otras formas de autenticación para lograr resultados más concluyentes en la identificación de estas estafas de cuantías millonarias. Como veremos, la base de estos procesos técnicos es la estructura química que los pigmentos que componen la obra, en concreto su datación y uso por diferentes autores.

Palabras Claves—Arte, Datación, Espectroscopia Raman, Falsificación, Pigmentos.

1. INTRODUCCIÓN

Desde el momento en que nacen los primeros testimonios escritos, nacen con ellos de forma paralela las primeras falsificaciones documentales. Desde el momento en que los documentos pueden llevar aparejada una remuneración, mediante las letras de cambio y testamentos, empieza a hablarse de falsificación delictiva. Y, de forma análoga, en el instante en que comienza el comercio con obras de arte, surge la falsificación de las mismas. Con el objeto de engañar, distorsionando a conciencia el origen, creación, autoría, escuela, o incluso cantidades en caso de ediciones limitadas, las falsificaciones se han hecho un hueco dentro de nuestro mercado. Y no queda ahí, sino que las técnicas se han modernizado y cada vez son más las obras falsas que circulan sin que reparemos en ellas. Estafas de cuantías millonarias se mueven de forma constante.

No podemos obviar casos de gran magnitud como el escándalo de Grafila Rosales, quien consiguió acumular una fortuna de más de 80 millones de dólares mediante la venta de sesenta supuestas obras impresionistas atribuidas, entre otros, a Motherwell, de Kooning o Pollock, pintadas en realidad por un inmigrante chino en un garaje de Queens [1].

Es como consecuencia de este tipo delictivo, y de las grandes ganancias que promete, que también surgen cada vez más técnicas referidas a la autenticación de obras de arte. Dentro de este proceso hay algunas pruebas de carácter testifical, otras de carácter artístico, y, las que nos ocupan en este artículo, pruebas científicas, en un crecimiento y constante desarrollo.

2. LOS PIGMENTOS

2.1. Relevancia en la Datación de Obras de Arte

Antoni Palet [2] define el concepto de pigmento artístico como materiales coloreados, un polvo fino, de origen orgánico, inorgánico o sintético, que, tras una manipulación humana y una mezcla con un vehículo aglutinante, sirven para colorear otros materiales, si son de las condiciones

óptimas para ello.

En los inicios de la manifestación artística del ser humano mediante el arte rupestre, apenas se utilizaban un par de ellos, tonos rojos, ocre, blancos y negros, procedentes de minerales molidos y carbones vegetales [3]. Sin embargo, a lo largo de la Historia se han descubierto y trabajado pigmentos diferentes, nuevos colores y texturas, que se han ido incorporando progresivamente a nuestra cultura pictórica.

TABLA 1

PIGMENTOS, COMPOSICIÓN Y USOS DESDE LA EDAD MEDIA [4]

Época	Pigmentos, composición química y años de utilización
Edad Media	-Laca carmín (laca coquinácea) -S. XIV Amarillo de plomo-estaño (óxido de plomo-estaño)
Renacimiento	-Siena tostada. Sombra tostada. Verde tierra. Mejoraron la técnica de elaboración de las lacas Amarillo de Nápoles (composición del pigmento antiguo desconocido) -Descubierto en la Edad Media, utilizado como color en el s. XVI -Azul ultramar natural (de lapislázuli) S. XVI Carmín
Siglo XVIII	-1704-1720 Azul de Prusia (ferrocianuro férrico) -1750 Amarillo de Nápoles (antimoniato de plomo) -1781 1782 (Descubierto)-1840 (Uso generalizado) Blanco de cinc -1797 (Descubierto) - 1819 (Uso generalizado) Amarillo de cromo (cromato de plomo)
Siglo XIX	-Negro Marte (óxido de hierro negro) -1802 1806 (Descubierto)-1840 (Uso generalizado) Azul cobalto (óxido de cobalto aluminio) -1802-1870 Azul cerúleo (estannato de cobalto) -1806 Rosa de Granza. -1809 (Descubierto) - 1862 (Uso generalizado) Verde óxido de cromo (sesquióxido anhídrido de cromo) -1814 (Descubierto) -1820 (Uso generalizado) Verde veronés (acetato y arseniato de cobre) -1822 Verde esmeralda. -1828 Azul ultramar artificial (sulfosilicato de sodio aluminio) -1834 Blanco de China, de nieve, de cinc (óxido de cinc) -1835 Verde cobalto. -1838 Viridiana, verde esmeralda (Sesquióxido hídrico de cromo) -1846-1897 Amarillo de cadmio (sulfuro de cadmio)

-1850 Tintes de alquitrán de hulla.
 -1850 (Uso generalizado) Amarillo de cinc (cromato de cinc)
 -1850 óxido amarillo, amarillo Marte (óxido de hierro amarillo sintético)
 -1856 Malva de Perkin (primer color orgánico. Es una anilina)
 -1860 Violeta cobalto y verde cobalto.
 -1861-1862 Amarillo cobalto, aureolita (nitrato cobalto de potasio)
 -1868 Carmesí de alizarina (rojo antraquinonoides)
 -1870 (Descubierto) - 1920 (Uso generalizado) Blanco de titanio (dióxido de titanio)
 -1871 Rojo puro.
 -1870 (Descubierto) - 1874 (Uso generalizado) Blanco litopón (sulfuro de cinc y sulfuro de bario)
 -1895 Rojo litol

-1901 Azul de indatreno.
 -1905 (Aprox.) Azul de manganeso (manganato de bario)
 -1909 Amarillo arilamida.
 -1910 (Descubierto) - 1925 (Uso generalizado) Rojo de cadmio (sulfoseleniuro de cadmio)
 -1920 Amarillo Hansa. Rojos Hansa. Rojo Naf-tol.
 -1920 Naranja de peridona.
 -1933 Azul de flalocianina (ftalocianina de cobre)
 -1935 Azul monastral
 -1950 Azul internacional Klein
 -1958 Quinacridonas
 -1950-1960 Amarillo de níquel (óxido de níquel titanio)
 -1970 Rojo de arilamida
 -1980 Amarillo de azo
 -1980 Colores de bencimidazolona
 -1990 Perilenes. Pirroles

Siglo XX

En este sentido, gracias a diversos métodos ópticos y microscópicos, cromatográficos y espectroscópicos, podemos identificar las estructuras químicas de los pigmentos, y así asociarlos a sus respectivas épocas.

Esto resulta útil en tres sentidos. Por un lado, podemos afirmar que determinados pigmentos no se habían descubierto en la época que se atribuye a la obra; por otro, y en sentido contrario, que los mismos ya habían dejado de utilizarse y de fabricarse; y, por último, los artistas suelen utilizar la misma paleta de pigmentos en todas sus obras, ya que se acostumbra a determinadas pinturas.

3. TÉCNICAS CIENTÍFICAS DE AUTENTIFICACIÓN: LA ESPECTROSCOPIA RAMAN

Aunque existen numerosas técnicas para la identificación de falsificaciones (microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido, espectroscopía UV-VIS e infrarroja...), la espectroscopía Raman es la utilizada actualmente de forma rutinaria en el análisis forense de las mismas. Es una técnica no destructiva, que se basa en enfocar un láser monocromático sobre la obra, y obtener un espectro Raman por la luz reemitida o dispersada por la misma. Esto ocurre porque, aunque la mayor parte de la luz monocromática es dispersada a la misma longitud de onda de la luz incidente, hay una parte que es dispersada a una longitud de onda diferente a la incidente. Esto nos proporciona la información química y estructural de los ma-

teriales utilizados en la creación pictórica, por lo que nos permite identificar los pigmentos utilizados, sea cual sea su origen [5] [6].

Para realizar las identificaciones se cuenta con amplias bases de datos de espectros de pigmentos, detallando color, épocas, fabricantes, estilos artísticos en los que se emplea, e incluso origen geográfico de los mismos. De esta forma, citando el trabajo de Rosanna Pérez Pueyo [7], "si realizamos un estudio sobre un cuadro presuntamente atribuido a Velázquez, podemos trabajar con una base de datos reducida a tres pigmentos azules (lapislázuli, azurita y esmalte), un pigmento amarillo (amarillo de plomo estaño), dos rojos (bermellón y laca), un negro (negro de hueso), un blanco (blanco de plomo) y cuatro tierras (tierra verde, tierra roja, ocre marrón y ocre amarillo), ya que estos son los pigmentos encontrados en los estudios realizados sobre algunos de sus cuadros". Es decir, un espectro Raman de otro pigmento extraído de un cuadro atribuido a Velázquez sería un indicio importante de falsificación, aunque no podría considerarse una prueba concluyente si el pigmento estaba ya descubierto y se utilizaba en la época. Si detectáramos, por ejemplo, azul monastral, descubierto en 1935, sería una evidencia clara de que se trata de una falsificación.

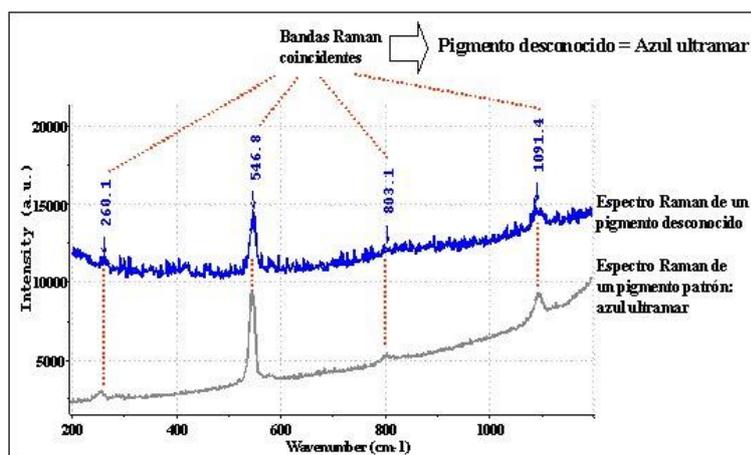


Fig. 1. Ejemplo de espectro Raman [8].

4. EL FUTURO DE LA AUTENTIFICACIÓN CIENTÍFICA

4.1. Avances en la Espectroscopía Raman

El fundamento de esta técnica es el mismo que cuando comenzó a utilizarse, pero el instrumental es cada vez más moderno, preciso y eficaz.

Aunque el efecto Raman fue descrito en 1928, y la teoría sistematizada del efecto Raman data de los años 30', los mayores avances en el equipamiento vienen de las últimas décadas. En concreto, vienen de 1960 con el descubrimiento del láser, y 1980 con la aparición de la fibra óptica [9].

Actualmente, se sigue progresando en la mejora del equipamiento utilizado, tanto en cuanto a comodidad, diseñando equipos de espectroscopía Raman portátiles, como en lo referente a la calidad de las pruebas. En ese sentido, por ejemplo, a día de hoy la mayoría de los instrumentales de dispersión Raman están equipados con detectores CCD bidimensionales multicanales, cuya funcionalidad radica en la alta eficiencia cuántica, la disminución del

nivel de ruido térmico y de ruido de lectura, y la amplia gama espectral disponible [10].

4.2. ¿Son Automatizables las Autenticaciones Gracias a las Pruebas Científicas?

La respuesta es no. Al menos, de momento. Las pruebas científicas, la espectroscopia Raman en concreto, así como tantas otras, resultan de gran ayuda a la hora de darle consistencia a un análisis experto de autoría de una obra. En muchas ocasiones, hasta pueden decretar la falsificación por datación de pigmentos, como antes hemos explicado. Los resultados obtenidos son dotados de gran fuerza probatoria al ser considerados *objetivos*. Sin embargo, en la mayor parte de las ocasiones, es imposible asegurar quién fue el autor de una obra basándonos exclusivamente en pruebas científicas. Según el autor Lluís Peñuelas [11], es, de hecho, imposible asegurar la autoría. Una vez se duda de la procedencia, se suelen examinar los documentos que acreditan la misma. El problema es que éstos son mucho más fáciles de falsificar que la obra misma.

Por ello, de momento las pruebas científicas en la identificación de falsificaciones artísticas no deben ser prácticamente nunca pruebas concluyentes, y deberán ser acompañadas de testimonios del autor o autora, en caso de que siga vivo, o de sus familiares, así como de informes de expertos en la materia que conozcan la obra del autor en cuestión: su estilo, trazos, colores, etc. Así y sólo así podría estar completa una declaración de autenticación o falsificación. De nada sirve determinar que los pigmentos coinciden con los utilizados por aquella persona a la que se atribuye la obra si sencillamente se trata de una falsificación brillante. Es necesaria la intervención del ojo humano para poder llevar a cabo esta labor.

Sin embargo, algunos avances se han desarrollado en la identificación casi automática de falsificaciones de autores concretos. En Valencia, la técnico superior en Restauración Greta García diseñó en 2016 un método científico para autenticar obras Modigliani [12], evento especialmente importante si destacamos la gran cantidad de falsificaciones de este autor que circulan por el mercado mundial. Así que se plantea la cuestión: ¿algún día podría automatizarse la identificación de falsificaciones únicamente mediante métodos científicos?

5. CONCLUSIONES

Las falsificaciones artísticas han existido siempre, pero los números van en aumento. A la par, las técnicas científicas para detectarlas siguen avanzando. La química ha supuesto un gran pilar en el avance de la protección de nuestro patrimonio cultural, y resulta una herramienta clave para ello. No sólo a nivel cultural, sino también jurídico, suponiendo pruebas de peso mucho mayor que muchas de las declaraciones.

Con todo, estas técnicas siguen necesitando ayuda de expertos en arte y en artistas, y, de momento, a pesar de las grandes ventajas que ofrecen, especialmente la espectroscopia Raman, no deben prescindir de la ayuda del ojo y criterio humano.

REFERENCIAS

- [1] M. Colin, "Dealer in art fraud scheme avoids prison", *The New York Times*, January 31 2017.
- [2] P. i C. Antoni, *Tratado de Pintura: Color, pigmentos y ensayo*, Barcelona, Calif: Edicions de la Universitat de Barcelona, pp. 27-28, 2002.
- [3] "Pintura rupestre: Definición, materiales y técnicas", *About Español*, <https://www.aboutspanol.com/pintura-rupestre-definicion-materiales-y-tecnicas-180060>, 2016.
- [4] Elaboración a partir de F. F. Miguel A., "Tabla de identificación cronológica de pigmentos, colores y tintes", <https://pinturaaloleo.es.tl/Tabla-de-identificaci%F3n-cronol%F3gica-de-pigmentos%2C-colores-y-tintes.htm>, 2006
- [5] "Análisis molecular no destructivo: Espectroscopia Raman", <http://www.actioarteyciencia.com/es/analisis-no-destructivos-de-obras-de-arte/procedimientos-cientificos/espectroscopia-raman.html>
- [6] P. P. Rosanna, "Procesado y Optimización de Espectros Raman mediante Técnicas de Lógica Difusa: Aplicación a la identificación de Materiales Pictóricos", Universitat Politècnica de Catalunya. Departament de Teoria del Senyal i Comunicacions, Barcelona, pp. 10-12, 2005.
- [7] P. P. Rosanna, "Procesado y Optimización de Espectros Raman mediante Técnicas de Lógica Difusa: Aplicación a la identificación de Materiales Pictóricos", Universitat Politècnica de Catalunya. Departament de Teoria del Senyal i Comunicacions, Barcelona, pp. 142-143, 2005.
- [8] Extraído de "Análisis No Destructivo de Pigmentos con Espectroscopia Raman", Universitat Politècnica de Catalunya, <http://www.tsc.upc.edu/raman/es/instalaciones/analisis-no-destructivo-pigmentos-espectrometria-raman>
- [9] H. T. José Ángel, "Teoria i experimentació en espectroscòpia Raman modular amb fibra òptica aplicada a l'anàlisi de pigments", Universitat Politècnica de Catalunya, Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de Telecomunicació de Barcelona, Barcelona, pp. 34-36, 2011.
- [10] Web de Quiminstrument2015. <https://quiminstrument2015.wordpress.com/2015/09/25/espectroscopia-raman/>
- [11] P. R. Lluís, "La autenticación de las obras de arte", *Autoría, autenticación y falsificación de las obras de arte*, Polígrafa, Barcelona, pp. 155-157, 2013.
- [12] "Una experta valenciana crea un método científico para autenticar obras de Modigliani", *Valencia Plaza Online*, 2016, <http://valenciaplaza.com/una-experta-valenciana-crea-un-metodo-cientifico-para-autenticar-obras-de-modigliani>



Irene Serrano Ron es estudiante de Derecho y Criminología de 5º curso en la Universidad Pablo de Olavide, matriculada en el año 2013. Ha sido alumna interna en el área de Derecho Penal de la misma Universidad durante dos años, y ha participado en la organización de varios congresos en el ámbito de la Criminología y las Ciencias Forenses siendo Secretaria de la Asociación Sevillana de Estudiantes de Criminología (ASEC).