

MOLEQLA

n°
3
2

Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide

ISSN 2173-0903

Portada

Julio Ezequiel Pérez Carbajo

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 Forense: Antonio Aguilar García

MoleQla Celular: Guillermo López Lluch

MoleQla Deporte: Alberto Grao Cruces

MoleQla Nanotecnología: Ana Paula Zaderenko Partida

MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón

MoleQla Química: Patrick J. Merkling

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. Merkling



ISSN 2173-0903

Editado el 21 de diciembre de 2018

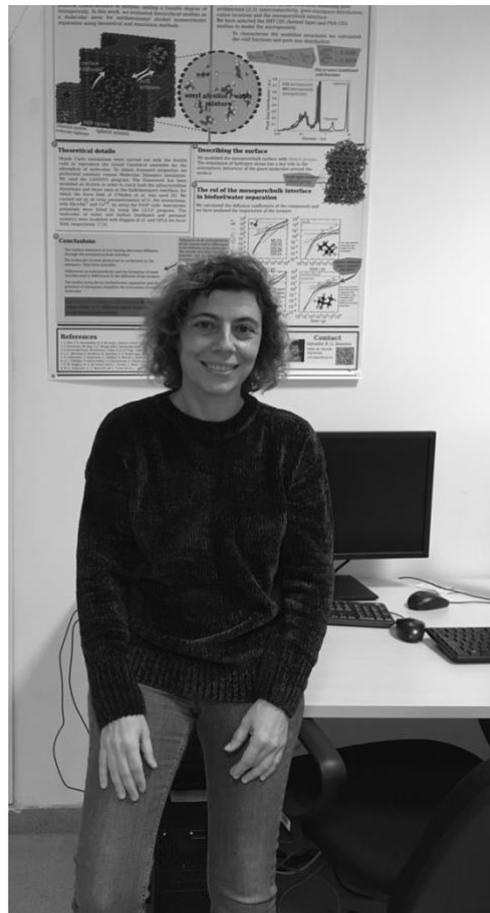
Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Editorial

Un año mas iniciamos las fiestas de navidad con un nuevo número de MoleQla. ¡El número 32!. Este año hemos tenido grandes novedades. Nuevo formato de portada, nueva web para que los autores puedan enviar los artículos de forma mas sencilla, nuevas secciones y también nuevas ideas. Destaco por ejemplo que en este número los estudiantes de 2ª Biotecnología se “estrenan” resolviendo de forma amena y didáctica un problema de física. Lo podéis comprobar en el artículo que tiene por título “*Sedimentation Speed of Suspended Blood Cells*”. También tenemos artículos muy interesantes en la sección de patrimonio, tres grandes artículos en Deporte, la manipulación climática y la “siembra de nubes” en regiones donde llueve poco en la sección MoleQla Forense, los trasplantes de médula ósea en MoleQla celular y muchas, muchas curiosidades en la sección de nanotecnología. Los Editores de MoleQla esperamos que disfrutéis con este número y os deseamos unas muy felices fiestas.

Sofia Calero

Editora Jefe de la Revista MoleQla



ÍNDICE

1. Moleq̃la Patrimonio

- 1.1. Microbiodeterioro por hongos en obras en papel: procesos de alteración y tratamientos de desinfección
- 1.2. El uso de láseres Er_YaG para la limpieza de obras pictóricas, sustratos pétreos y metales

2. Moleq̃la Deporte

- 2.1. Consecuencias derivadas del trasplante de corazón y efectos del ejercicio
- 2.2. Readaptación físico deportiva para la rotura de LCA
- 2.3. Asociación entre actividad física y condición física con el dolor y la depresión: revisión narrativa

3. Moleq̃la Forense

- 3.1. El Yoduro de Plata y la Siembra de Nubes

4. Moleq̃la Celular

- 4.1. Para ti es un pinchazo, para ellos la vida – Trasplante de médula ósea

5. Moleq̃la Química

- 5.1. Sedimentation Speed of Suspended Blood Cells

6. Moleq̃la Nanotecnología

- 6.1. Nanogeles y sus aplicaciones biomédicas
- 6.2. La nanotecnología en las enfermedades de acumulación lisosomal
- 6.3. Nanotecnología para modular el sistema inmune
- 6.4. Nanopartículas de oro en la detección viral

Microbiodeterioro por hongos en obras en papel: procesos de alteración y tratamientos de desinfección.

Mónica Moreno Falcón

Resumen—Partiendo de una breve aproximación a la composición química del papel y de los mecanismos-factores de alteración fúngicos que le afectan, se realiza una revisión de los tratamientos de control microbiológico empleados tradicionalmente por Archivos y Bibliotecas y de los nuevos tratamientos en vía de investigación actualmente.

Palabras Claves— biodeterioro, hongos, papel, mecanismos de alteración, tratamientos de desinfección.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos, como principal factor de biodeteriígeno en colecciones documentales, son una de las preocupaciones principales de archivos y bibliotecas. Su presencia ubicua y la facilidad con que las esporas pueden ser transportadas por los flujos de aire les permiten infestar casi cualquier material si las condiciones ambientales son las adecuadas.

Además, gracias a la capacidad celulolítica que muchas especies presentan, pueden descomponer las macromoléculas celulósicas y utilizarlas como fuente de energía[1]. De esta forma, libros y documentos se convierten en potenciales sustancias nutritivas para los hongos.

A pesar de las propuestas de control de factores biodeteriogenos y de la existencia de diversos medios de desinfección, hoy en día no se dispone de un tratamiento que pueda ser considerado eficaz y no tóxico[2]. En este aspecto conocer los mecanismos del microbiodeterioro fúngico y las ventajas y desventajas que cada tratamiento ofrece resulta esencial para avalar la toma de decisiones en un tratamiento de desinfección.

2. EL PAPEL COMO SOPORTE CELULÓSICO

El papel puede definirse “como el material resultante del proceso de separación de fibras en una suspensión acuosa, así como de la posterior formación de una hoja”[3]. La fibra es por tanto el componente principal, tratándose muchas veces de un material orgánico vegetal con alta proporción de celulosa. Las reacciones de oxidación e hidrólisis son las principales causas de alteración de la celulosa, provocando la disminución del tamaño de la cadena molecular de la celulosa[4].

La presencia de hemicelulosa y lignina en la pasta, así como la presencia de encolantes y otros aditivos como el alumbre o el almidón también influyen en la durabilidad del papel y en su susceptibilidad al biodeterioro.

4. LA BIODEGRADACIÓN POR HONGOS DEL PAPEL

4.1. Mecanismos de alteración

Los hongos -como organismos quimiorganotrofos- son capaces de obtener alimento mediante la degradación enzimática de materiales orgánicos[1][2].

El proceso de degradación de la celulosa es producido por la enzima *celulasa* y genera la oxidación e hidrólisis de la macromolécula. El resultado es la ruptura del enlace β -glucosídico y el acortamiento de la cadena polimérica[1]. La capacidad para descomponer la celulosa en monómeros de glucosa varía según los diferentes géneros, siendo *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Paecilomyces* y *Myrriethecium* los géneros que reportan una mayor actividad celulolítica[1]. La hemicelulosa puede ser degradada por la mayoría de los hongos y bacterias. El complejo enzimático de la enzima *hemicelulasa* es la encargada de transformar la hemicelulosa en monómeros de xilosa[1].

Respecto a la lignina se trata de un polímero muy estable a la degradación microbiana. Solo puede ser atacado por basidiomicetos, actinomicetos termófilos y algunas bacterias[1]. Este proceso está catalizado por la enzima lignasa, que es en realidad un compuesto multienzimático.[1].

Los almidones empleados en la fabricación del papel o en la restauración también pueden ser degradados por la enzima amilasa dando lugar a monómeros de glucosa y maltosa. Ceras, aceites secantes y grasas también pueden ser biodegradados y utilizados como nutrientes[1].

Algunas especies de hongos son capaces de usar los substratos carbonatados de las cargas del papel para generar oxalatos y unos cristales llamados “micolitos” que precipitan sobre las fibras y modifican su reserva alcalina [2][5].

Todas las transformaciones químicas descritas con anterioridad generan cambios morfológicos en los soportes documentales que pueden ser identificadas visualmente, son los llamados indicadores de alteración.

4.2. Indicadores de alteración

Manchas de diferentes colores-texturas y biopátinas son el principal indicador de microbiodeterioro. El tono de

estas manchas depende en gran parte de los pigmentos excretados por los microorganismos así como por el color de la colonia (Fig. 1). Aunque el microorganismo no use el soporte como fuente de energía, los productos metabólicos excretados junto al anhídrido carbónico del ambiente pueden producir cambios químicos que a su vez generan cambios cromáticos. Esta es la causa de que no siempre sea posible identificar si las manchas han sido generadas por agentes biológicos o químicos[1][5].

Variaciones en las características mecánicas y la pérdida de cohesión de los soportes documentales son otros indicadores que pueden evidenciar la presencia de un ataque microbiológico. Estas alteraciones pueden ser causadas por la acción mecánica de los microorganismos durante su crecimiento o por las sustancias ácidas excretadas [1][5]. A su vez, estas facilitan la fragmentación del documento y aumentan la superficie de contacto que puede ser atacada a posteriori

Decoloración del soporte, de las tintas y disolución de los adhesivos también son considerados indicadores de microbiodeterioro[5].

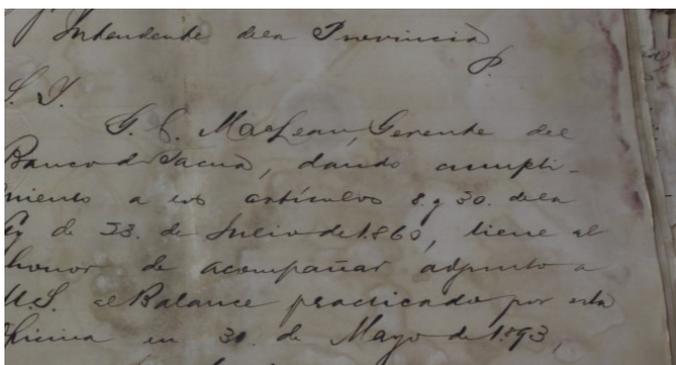


Fig. 1. Manchas generadas por ataque biológico. Fondo Intendencia de Tacna. Archivo Histórico Vicente Dagnino. Foto tomada por Mónica Moreno, 2018.

4.3. Fenómenos que propician la alteración

Los factores ambientales y las mismas características específicas del papel pueden influir en el desarrollo de infestaciones fúngicas o actuar como factores limitantes.

Entre los factores intrínsecos, la composición y naturaleza de los materiales, la higroscopicidad y el contenido acuoso, la presencia de impurezas y el pH son los factores que más condicionan los procesos de biodeterioro[1].

Entre los factores extrínsecos, la humedad relativa es quizá uno de los más influyentes ya que cualquier reacción metabólica requiere de ambientes acuosos. Tradicionalmente humedades relativas que superen el 65% han sido consideradas como óptimas para el desarrollo de colonias de hongos[1]. La actividad acuosa (a_w) es un parámetro estrechamente ligado a la humedad de la materia, si es superior a 0.6 a_w es suficiente para permitir el crecimiento de una amplia variedad de hongos [2][5].

La temperatura como fuente de energía calorífica condiciona las relaciones metabólicas y por lo tanto el crecimiento y reproducción de los seres vivos. En general 30°C suele ser una temperatura óptima para el desarrollo de

microorganismos. Además, es importante considerar que las oscilaciones de los parámetros anteriormente descritos favorece la germinación de las esporas[1].

Respecto a la luz visible esta es una fuente primaria de energía para los organismos fotosintéticos. En relación al ciclo metabólico de los hongos no se conoce muy bien cuáles son sus efectos, aunque algunos autores afirman que puede acelerar la esporulación [1]. La radiación ultravioleta en cambio puede ser usada con funciones biocidas ya que por debajo de los 260 nanómetros genera la ruptura de las moléculas[2].

El oxígeno condiciona el desarrollo de las especies aeróbicas estrictas, aunque no influye en el desarrollo de aquellas especies anaeróbicas o aeróbicas facultativas.

La circulación del aire y la ventilación son factores que evitan la condensación de agua ambiental minimizando la germinación de las esporas de los hongos.

5. TRATAMIENTOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO

5.1. Medidas preventivas

El registro y control de medidas ambientales (temperatura, humedad relativa y grado de ventilación); el mantenimiento regular de los conductos del aire acondicionado; la limpieza de los espacios de depósito; y el desarrollo de protocolos que eviten el ingreso de materiales contaminados son medidas habitualmente llevadas a cabo por Archivos y Bibliotecas[1][6].

5.2. Identificación de especies y daños.

Si bien las técnicas de aislamiento y cultivo han sido empleadas tradicionalmente por la microbiología en la identificación de especies fúngicas, recientes estudios demuestran que solo pueden identificar alrededor de un 5% del total de los microorganismos presentes[5]. En este aspecto el desarrollo de las técnicas de biología molecular en la última década está introduciendo cambios significativos[7]. Respecto a la cuantificación del grado de infestación, el uso del microscopio electrónico de barrido (SEM) permite visualizar si se trata de un ataque en superficie o si afecta en profundidad al sustrato celulósico[5].

5.3. Tratamientos químicos

El timol, empleado como fumigante durante años, además de su toxicidad ha demostrado provocar un fuerte amarilleamiento del papel y degradar las tintas metales[8]. Las sales cuaternarias de amonio, si bien no parecen influir en la estabilidad de la celulosa, pueden tener efectos negativos sobre el sistema inmunitario humano[2]. El óxido de etileno es inflamable, mutagénico y cancerígeno. Un caso similar sería el del uso del formaldehído igualmente tóxico y cancerígeno[8]. Pentaclorofenol, paradiclorobenceno, ortofenilfenol, formaldehído y otras sustancias igualmente tóxicas han sido usadas en tratamientos de desinfección[2].

Actualmente, biocidas y fumigantes están siendo sustituidos paulatinamente por la aplicación de etanol al 70% con efecto fungicida en tiempos de exposición de 2 a 3 min [5]. Recientes estudios revisan las posibilidades que

el etanol ofrece como desinfectante en distintas proporciones [9]. La pérdida de brillo del papel y la disolución de algunas tintas son los efectos negativos provocados por este tratamiento[5].

La aplicación de propionato de calcio disuelto en etanol también es empleada actualmente como inhibidor del crecimiento de hongos, aunque hay autores que plantean que a largo plazo pueden aumentar la producción de esporas y que variaciones en el pH de la disolución podrían reducir su efectividad[2]. Los parabenos son utilizados con la misma función pero con mejores resultados[8].

El dióxido de titanio (TiO₂) expuesto a luz UV de menos de 385 nm presenta un fuerte poder oxidante y provoca la muerte de los microorganismos[5]. Aunque los hongos son menos sensibles que las bacterias a este tratamiento se está investigando su uso como dispersión de nanopartículas[10]. Para evitar la posible reacción del TiO₂ con la celulosa se está testando su aplicación en soportes gelificados, hasta ahora, con buenos resultados[11].

Las nanodispersiones de óxido de zinc también están siendo testadas por sus cualidades protectoras ante los efectos nocivos de la luz y los ataques de hongos y bacterias[11], así como las nanodispersiones de clotrimazol[12].

5.4. Tratamientos físicos

La radiación ultravioleta y la radiación gamma han sido y son usadas con funciones fungicidas con resultados muy efectivos a pesar de haberse demostrado que, hasta en dosis muy bajas, provocan la despolimerización y el amarilleamiento de la celulosa. Además el papel irradiado es más propenso al ataque de insectos y hongos[8][5].

Las temperaturas extremas, ya sea por altas temperaturas o por congelación también han sido empleadas como técnica de desinfección, aunque las altas temperaturas favorecen las reacciones de oxidación de la celulosa[2].

Respecto a las atmósferas de gases inertes, si bien su uso es muy efectivo para infestaciones de insectos y los estudios realizados hasta la fecha muestran efectos inhibidores del crecimiento de hongos, algunos autores los atribuyen en parte a los fenómenos de reducción de la humedad que llevan asociados atmósferas bajas en oxígeno[2].

Por último la deshidratación también ha sido ampliamente usada, especialmente en caso de inundaciones[2].

6. CONCLUSIONES

La fenomenología del microbiodeterioro puede variar significativamente en función de las distintas especies de hongos, la naturaleza del soporte celulósico y los factores físico-químicos del ecosistema.

Si bien el uso de productos químicos en tratamientos de desinfección ha sido algo habitual, la alta toxicidad de muchos de los materiales empleados tradicionalmente así como los efectos negativos causados sobre algunos soportes desaconsejan su uso hoy en día.

A nivel práctico, la corriente actual es evitar el uso de productos tóxicos y optar por aplicar medidas de conservación preventiva y disoluciones de alcohol etílico al 70% para el caso de infestaciones activas.

Los nuevos tratamientos fundamentados en el uso de

nanomateriales si bien ofrecen resultados prometedores, su eficacia e inocuidad todavía deben ser testadas sobre materiales originales.

REFERENCIAS

- [1] M. Vaillant Callol, *Biodeterioro del patrimonio histórico documental: alternativas para su erradicación y control*. Rio de Janeiro, 2013.
- [2] S. Sequeira, E. J. Cabrita, and M. F. Macedo, "Antifungals on paper conservation: An overview," *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 74, pp. 67–86, 2012.
- [3] V. Daniels, "Paper," in *Conservation Science: Heritage Materials*, pp. 32–55, 2007.
- [4] S. Zervos, *Natural and accelerated ageing of cellulose and paper*, Nova Scien., 2015.
- [5] K. Sterflinger and F. Pinzari, "The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment," *Environ. Microbiol.*, vol. 14, no. 3, pp. 559–566, 2012.
- [6] S. O. Sequeira, E. J. Cabrita, and M. F. Macedo, "Fungal biodeterioration of paper: How are paper and book conservators dealing with it? An international survey," *Restaurator*, vol. 35, no. 2, 2014.
- [7] V. M. M. Chaparro, J. R. P. Castiñeira, and M. S. Puerto, "174. Estudio de microorganismos causantes de biodeterioro mediante técnicas de biología molecular en el IAPH," *Rev. ph*, vol. 0, no. 84, 2013.
- [8] S. Zervos and I. Alexopoulou, "Paper conservation methods: a literature review," *Cellulose*, vol. 22, no. 5, pp. 2859–2897, 2015.
- [9] S. O. Sequeira, A. J. L. Phillips, E. J. Cabrita, and M. F. Macedo, "Ethanol as an antifungal treatment for paper: short-term and long-term effects," *Stud. Conserv.*, vol. 62, no. 1, pp. 33–42, 2017.
- [10] H. Wang, G. Lu, J. Zhang, and D. Zheng, "Multifunctional nanocomposites for paper conservation," *Stud. Conserv.*, vol. 58, no. 1, pp. 23–29, 2013.
- [11] M. Afsharpour and S. Imani, "Preventive protection of paper works by using nanocomposite coating of zinc oxide," *J. Cult. Herit.*, vol. 25, pp. 142–148, 2017.
- [12] S. O. Sequeira, C. A. T. Laia, A. J. L. Phillips, E. J. Cabrita, and M. F. Macedo, "Clotrimazole and calcium hydroxide nanoparticles: A low toxicity antifungal alternative for paper conservation," *J. Cult. Herit.*, vol. 24, pp. 45–52, 2017.



Mónica Moreno Falcón diplomada en Conservación y Restauración por la Escuela Superior de Conservación de Bienes Culturales de Madrid y magister en Sistemas de Información Geográfica por la Universidad de Extremadura. Actualmente se desempeña como encargada de la Colección Patrimonial Alfredo Wormald Cruz, perteneciente a la Universidad de Tarapacá (Arica,

Chile). Su interés investigador se centra en la gestión de riesgos en colecciones documentales.

El uso de láseres Er:YAG para la limpieza de obras pictóricas, sustratos pétreos y metales

Luis Javier Sánchez-Aparicio

Resumen— La limpieza láser se ha convertido, a día de hoy, en uno de los métodos de conservación del patrimonio histórico con mayor proyección y potencialidad, motivado en gran parte por su naturaleza no intrusiva, así como por su rendimiento y flexibilidad ante diferentes casuísticas. Bajo el amparo de esta técnica, son numerosos los sistemas láseres empleados para la limpieza del patrimonio histórico, entre los que destacan los láseres sólidos de neodimio o los láseres de gas excímero. Dentro de este abanico de posibilidades caben mención los láseres de erbio o Er:YAG, láseres que trabajan en una longitud de onda de 2940 nm (longitud que corresponde con un pico de absorción en los grupos funcionales OH) dando lugar a fenómenos de fotodegradación que permiten una limpieza efectiva de indicadores visuales de deterioro con origen biológico, productos de corrosión, resinas o barnices entre otros.

Palabras Claves— Conservación, Eliminación de alteraciones, Fotodegradación, Láseres Er:YAG, Limpieza laser.

1. INTRODUCCIÓN

Ya desde sus inicios en 1965 a través de los estudios efectuados por Schawlow sobre la capacidad de limpieza del láser pulsado de rubí en bienes confeccionados en papel, la limpieza láser ha ido creciendo en importancia dentro del campo de la conservación del patrimonio histórico [1]. Crecimiento que se ha visto impulsado por los principios actuales en materia de conservación: mínima intrusividad, uso de técnicas modernas probadas científicamente o el respecto de por la autenticidad entre otros, así como por la creación de la organización internacional LACONA (Lasers in the CONservation of Artworks). Todo ello, junto a su flexibilidad, permitiendo la limpieza de diferentes sustratos como la piedra o el metal, y el control preciso de los parámetros intervinientes, han situado al láser como una de las técnicas de mayor proyección dentro de la limpieza del patrimonio histórico [1].

Dentro de la diversidad de sistemas de limpieza láser disponibles a día de hoy, el láser de estado sólido Nd:YAG (Neodymium-Doped Yttrium Aluminium Garnet), junto a sus armónicos, se sitúan como las fuentes láser por excelencia en la conservación del patrimonio histórico, adquiriendo gran relevancia en la limpieza de sustratos pétreo e incluso revocos sin olvidar tampoco, los láseres de gas excímero para la limpieza de barnices [1]. Sin embargo, y en especial a partir del año 2000, comienza a cobrar importancia una fuente láser alternativa: el láser Er:YAG (Erbium-Yttrium Aluminium Garnet), fuente laser caracterizada por un gran control de la penetración, un bajo gradiente térmico (en comparación con otras fuentes láser), así como un buen rendimiento en la eliminación de barni-

ces, resinas, líquenes, hongos o incluso productos de corrosión [1-5].

2. LA LIMPIEZA LÁSER

2.1. Fundamentos

En la actualidad es amplia y diversa la aplicación de láseres, ej. técnicas LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) o láser escáner, en el diagnóstico del patrimonio histórico [1]. Estas técnicas, dentro de las cuales se incluye la limpieza láser, basan su éxito en la emisión de un haz de energía coherente, monocromático y direccional, lo que permite a la limpieza láser eliminar capas superficiales no deseadas, ej. costras negras o líquenes, todo ello gracias a los fenómenos producidos por la interacción entre el láser y la materia.

La eliminación de estas capas requiere un control y conocimiento exhaustivo de los siguientes parámetros principales: (i) la longitud de onda, la cual depende de la fuente generadora del láser, condicionando la mayor o menor absorción energética por parte de la capa tratada; (ii) la fluencia o densidad energética, el control de este parámetro es crucial a fin de evitar daños no deseados en la obra; (iii) la frecuencia, parámetro que condiciona el tiempo de disipación de la energía; (iv) el número de pulsos y; (v) las características del haz, tales como la coherencia, la divergencia, la energía del pulso o la distancia de trabajo.

Dentro de este campo, es posible encontrar diversos tipos de láseres destinados a la limpieza de bienes patrimoniales, por ejemplo, los láseres de Nd:YAG, de rubí o de He-Ne (láser de Helio-Neón), conjunto donde cabe mención el láser Er:YAG, fuentes de energía direccional y coherente que trabajan en los 2940 nm. En la actualidad existen di-

versas plataformas comerciales de limpieza láser Er:YAG tales como la Conservator 2940®, la Light brush® o la XS Fidelis® [1]. Estas plataformas hacen uso de brazos articulados y sistemas de espejos que permiten posicionar el haz láser en el punto deseado [1].

2.2. Mecanismos de limpieza basados en láseres Er:YAG

Tomando como base la longitud de onda de trabajo del láser Er:YAG, la cual es de 2940 nm, su capacidad de limpieza dependerá en gran medida de la presencia de grupos hidroxilos dentro del material a retirar. Estos grupos funcionales, constituidos por un átomo de oxígeno y un átomo de hidrógeno, presentan un pico de absorción a los 2940 nm, lo cual da lugar a fenómenos de fotodegradación tras la aplicación de un láser Er:YAG [1]. Para aquellas sustancias carentes de este grupo funcional, se hará necesario el uso de soluciones acuosas ricas en hidroxilos tales como el agua, el alcohol isopropílico o acetona [1]. Estas soluciones precipitan y se expanden al absorber la radiación del láser, provocando así la disgregación del material que se quiere retirar [1].

Sin embargo, ese pico de absorción característico de los grupos hidroxilos puede dar lugar a daños no deseados en pinturas o textiles, siendo necesario un conocimiento previo del nivel de penetración de la técnica con diferentes configuraciones. Bajo esta premisa, autores como Andreotti *et al.* [2] y Striova *et al.* [3, 4] evalúan la capacidad de penetración del láser, obteniendo valores comprendidos entre los 3-30 μm .

3. APLICACIÓN A LA CONSERVACIÓN DE PINTURAS

Si bien en sus inicios la limpieza láser Er:YAG estuvo enfocada únicamente a la eliminación de barnices y repintes sobre pinturas en lienzo, las investigaciones llevadas a cabo en los últimos años han extendido su campo de aplicación, siendo posible encontrar trabajos de limpieza sobre pinturas murales o incluso trabajos de limpieza de pátinas de oxalato o eliminación de resinas [3].

3.1. Umbrales de daño en pigmentos

Una de las principales limitaciones de la limpieza láser reside en el daño inducido por la misma a los materiales de interés (ej. la capa pictórica en obras policromadas). Es por ello, que es requisito indispensable disponer de un conocimiento exhaustivo tanto del poder de penetración del láser, el cual puede oscilar entre los 3-30 μm , así como el umbral de daño del material de interés, en este caso los pigmentos que componen la capa pictórica. Eco de esta necesidad, autores como Andreotti *et al.* [2] evalúan los umbrales de daño de diferentes pigmentos sobre pinturas al fresco y pinturas de tempera observando, de manera general, el umbral de daño aproximado de 2 J/cm^2 . Di-

chos umbrales pueden crecer con el uso de agentes humectantes, excepto en aquellas situaciones para las cuales saturan la capa pictórica donde el umbral desciende drásticamente [2]. Estos umbrales de daño dependen en gran medida de, entre otros factores [3]: (i) la edad de la capa pictórica; (ii) la composición química del pigmento y; (iii) la duración del pulso.

3.2. Limpieza de materiales no deseados

El primer trabajo científico sobre la capacidad de limpieza del láser Er:YAG en obras pictóricas data del año 2000 [1]. A partir de ese momento, han sido diferentes los autores que han aplicado la limpieza láser Er:YAG en la conservación de obras pictóricas. De entre este conjunto de trabajos cabe mención el efectuado por Andreotti *et al.* [5] donde gracias a la limpieza láser Er:YAG fue posible la eliminación de una capa de barniz aplicada sobre una capa pictórica altamente frágil de lapislázuli (Fig. 1) [5]. Autores como Striova *et al.* [4] también han aplicado la limpieza láser Er:YAG en la eliminación de pátinas de oxalato e incluso costras usando para ello fluencias cercanas a los 2 J/cm^2 [1].

Dentro de este conjunto de trabajos experimentales que avalan la aplicabilidad de la limpieza láser Er:YAG en obras pictóricas, cabe mencionar una conclusión común en todos ellos: la necesidad de elegir de forma correcta el agente humectante [1]. Este agente, no solo permite obtener diferentes penetraciones durante la limpieza sino también, reducir el choque térmico provocado por la ablación láser permitiendo así la aplicación de varias pasadas sin provocar daños sobre la capa pictórica [1].



Fig. 1. Resultado de la limpieza láser sobre la obra pictórica "Cristo ante Pilatos". Adaptada de [5].

4. LA LIMPIEZA DE FÁBRICAS PÉTREAS

Más allá de las obras pictóricas, el láser Er:YAG ha encontrado un hueco en la limpieza láser de fábricas pétreas [6, 7]. Autores como Scheerer *et al.* [6], estudian la capacidad del láser Er:YAG en la eliminación de resinas epoxi sobre fábricas pétreas [6]. En este estudio se efectúa, además, una comparativa entre la limpieza Nd:YAG y Er:YAG sobre

sustrato pétreo, observándose alteraciones cromáticas y en algunos casos picados para el primero de los sistemas de limpieza [6].

En paralelo a estos resultados, han sido diversos los autores que han apliado con éxito la limpieza láser Er:YAG para eliminar costras negras de espesores comprendidos entre 1-3 mm y fluencias entorno a los 15J/cm², así como pátinas de oxalato con fluencias de unos 3.5 J/cm² [1]. Sin olvidar tampoco, su buen rendimiento frente a colonias biológicas líquénicas o incluso hongos [1].

5. OBRAS EN METAL

A día de hoy, es difícil encontrar estudios experimentales de la aplicación de la limpieza láser Er:YAG en sustratos metálicos. Autores como Daskalaki-Mountanou [8], aplican la limpieza láser Er:YAG como método complementario para la eliminación de la capa de corrosión que cubren dos estatuas de cobre. De entre los resultados obtenidos, el autor destaca como ventajas la efectividad y el buen control del láser mientras que, como inconvenientes, destaca el bajo rendimiento de la limpieza [8].

Más allá de la limpieza de artefactos de metal, autores como Pereira-Pardo *et al.* [9] evalúan la aplicabilidad de la limpieza láser Er:YAG sobre un alfiler romano con un dorado de plata. Durante el proceso de limpieza, los autores aplican una irradiación con una fluencia media de 3J/cm² para la eliminación de la corrosión verde (malaquita) que coloniza el artefacto (Fig. 2a), usando como agente humectante agua desionizada (Fig. 2) [9].



Fig. 2. Resultados de la limpieza láser de un alfiler romano dorado en plata. Adaptada de [9].

6. CONCLUSIONES

Frente a los sistemas de limpieza láser más comunes basados en Nd:YAG, la limpieza con láseres Er:YAG parece situarse como una alternativa de gran potencial. Dicha alternativa destaca, en comparación con la anterior, por: (i) su mayor manejabilidad; (ii) el bajo incremento de temperatura en la zona tratada y; (iii) unos menores riesgos para la salud y para la seguridad del operario. En contraste a estas ventajas caben destacar también un conjunto de limitaciones en comparación con los láser Nd:YAG,

tales como la dependencia de la eficacia de la limpieza (penetración y umbral de daño) de las características del agente humectante o el menor rendimiento.

REFERENCIAS

- [1] L. Pereira-Pardo and C. Korenberg, "The use of erbium lasers for the conservation of cultural heritage. A review," *Journal of Cultural Heritage*, 2017.
- [2] A. Andreotti, M. Colombini, A. Felici, G. Lanterna, M. Lanfranchi, K. Nakahara, *et al.*, "Preliminary results of the Er: YAG laser cleaning of mural paintings," in *Lasers in the Conservation of Artworks*, ed: Springer, 2007, pp. 203-210.
- [3] J. Striova, B. Salvadori, R. Fontana, A. Sansonetti, M. Barucci, E. Pampaloni, *et al.*, "Optical and spectroscopic tools for evaluating Er: YAG laser removal of shellac varnish," *Studies in Conservation*, vol. 60, pp. S91-S96, 2015.
- [4] J. Striova, R. Fontana, M. Barucci, A. Felici, E. Marconi, E. Pampaloni, *et al.*, "Optical devices provide unprecedented insights into the laser cleaning of calcium oxalate layers," *Microchemical Journal*, vol. 124, pp. 331-337, 2016.
- [5] A. Andreotti, W. P. Brown, M. Camaiti, M. P. Colombini, and A. DeCruz, "Diagnosis of materials and effectiveness of Er: YAG laser cleaning as complementary treatment in a panel painting attributed to Lluís Borrassà (fifteenth century)," *Applied Physics A*, vol. 122, p. 572, 2016.
- [6] S. Scheerer, M. Abraham, and O. Madden, "Study of the effects of laser radiation on epoxy resins and epoxy systems on stone, ceramic, and glass surfaces," *Journal of Cultural Heritage*, vol. 4, pp. 223-229, 2003.
- [7] A. DeCruz, M. L. Wolbarsht, A. Andreotti, M. P. Colombini, D. Pinna, and C. F. Culbertson, "Investigation of the Er: YAG laser at 2.94 μm to remove lichens growing on stone," *Studies in Conservation*, vol. 54, pp. 268-277, 2009.
- [8] Daskalaki-Mountanou. "The use of lasers in the conservation of museum objects made from plastics". <http://www.vam.ac.uk/blog/conservation-journal/the-use-of-lasers-in-the-conservation>
- [9] L. Pereira-Pardo, C. Korenberg, N. S., B. A., and C. D., "Investigating the use of the Er:YAG laser for the conservation of inorganic archaeological artefacts," presented at the ICOM-CC 18th Triennial Conference, Dinamarca, 2017.



Luis Javier Sánchez Aparicio: Ingeniero de la Edificación desde 2014. Cursó el "Máster universitario en Geotecnologías aplicadas a la Ingeniería y Arquitectura" en 2012. Actualmente está cursando el "Máster Universitario de Técnicas del Patrimonio Histórico" en la Universidad Pablo de Olavide. Su actividad tanto profesional ha estado siempre ligada a la diagnosis y detección de daños en construcciones históricas

Consecuencias derivadas del trasplante de corazón y efectos del ejercicio

Tomás Dobarro López

Resumen - El trasplante de corazón (TC) es el *gold standard* en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada que no responden al tratamiento médico o a la cirugía convencional. Un receptor de trasplante de corazón (RTC) sufre consecuencias derivadas de múltiples factores que afectarán a su vida. En este trabajo se abordan algunas de las consecuencias más importantes junto con los efectos que produce el ejercicio sobre las mismas.

Palabras Claves - Consecuencias, Efectos del ejercicio, Ejercicio físico, Trasplante cardiaco, Trasplante de corazón.

1. INTRODUCCIÓN

El trasplante de corazón (TC) ha sido establecido como el *gold standard* en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada que no responden al tratamiento médico o a la cirugía convencional [1]. Se cifra en 135.387 los TC realizados en todo el mundo hasta el 30 de junio de 2016 [2]. Después del descenso entre 1993 y 2004, los TC han aumentado de forma progresiva hasta batir el récord en 2015 con 5.074 trasplantes [2]. En España, constan 7.869 TC realizados hasta el 31 de diciembre de 2016 [3]. Este tratamiento se mantiene estable desde el 2003, con alrededor de 250-300 TC al año [3].

Existen consecuencias de naturaleza multifactorial derivadas del TC. En este trabajo se exponen algunas de las más importantes, además de los efectos que tiene el ejercicio físico sobre las mismas. No obstante, otras consecuencias que no exponemos como la disfunción endotelial, la inmunosupresión, los problemas psicosociales, etc. también se deben tener en cuenta en estos pacientes.

2. CONSECUENCIAS DEL TC

2.1. Incompetencia cronotrópica

Se define como la incapacidad del corazón de ajustar adecuadamente su frecuencia en respuesta al aumento de la actividad física o el cambio de las demandas metabólicas [4]. Esta consecuencia se debe a la denervación del corazón [5], [6], la cual, consiste en seccionar quirúrgicamente las fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas, lo que resulta en alteraciones del control cardiovascular [7]. La reinervación es posible, ocurre de meses a años post-TC, es parcial, heterogénea y no acontece en todos los receptores de trasplante de corazón (RTC) [7].

Este procedimiento quirúrgico merma la capacidad para hacer ejercicio del RTC, al menos a corto plazo, ya que hace que el control cardiorrespiratorio (VO_{2pico}) y hemodinámico (frecuencia cardiaca (FC), gasto cardiaco y presión arterial (PA)) dependa inicialmente del mecanismo de Frank-Starling y, más tarde, sobre las concentraciones de catecolaminas circulantes y la fracción de eyección, debi-

do a la falta de estimulación simpática, parasimpática y barorrefleja [1]. No obstante, este sistema es insuficiente para alcanzar una FC y una contractilidad normales [7].

Debido a la incompetencia cronotrópica (entre otros factores que comentaremos más adelante), los RTC tienen menores niveles de VO_{2pico} (70-80% [8]; 50-70% [9] del valor estimado para una persona sana de la misma edad), y también, mayor FC, PA y resistencia vascular en reposo [1].

Tanto en respuesta al ejercicio submáximo, como cercano al máximo, la FC y la PA aumentan más lentamente, acompañadas por un aumento de la resistencia vascular, además, se alcanza una menor PA y frecuencia cardiaca pico (FCpico), las cuales, descienden más lentamente durante la recuperación [1], [5], [7], [10], [11]. Esto provoca una respuesta anormal del gasto cardiaco en respuesta al ejercicio [7] y, además, puede ser la causa de finalización prematura del mismo [5].

No obstante, la incompetencia cronotrópica es más prominente durante los primeros meses post-TC y tiende a normalizarse en la mayoría de los pacientes después de los 12 meses [10]. Nytrøen et al. [12] observaron que la respuesta de la FC mejoró significativamente durante el primer año post-TC (las mejoras más sustanciales durante los primeros 6 meses), con un aumento más rápido en la FC al principio del ejercicio, una mayor FCpico y una disminución de la FC más rápida durante la recuperación. Una mayor FCpico y FC de reserva (FCres) se asociaron fuertemente con una mayor capacidad de trabajo, pudiendo ser expuestos a mayores intensidades de ejercicio, lo cual, puede resultar en mejoras de la capacidad para hacer ejercicio y otros beneficios para la salud en RTC.

Hasta ahora hemos hablado de población general, no obstante, en un RTC relativamente en forma, la incompetencia cronotrópica no es un factor limitante para la capacidad de hacer ejercicio. En esta población, los predictores más importantes del VO_{2pico} son factores periféricos que mencionaremos en el siguiente apartado [13].

2.2. Capacidad cardiorrespiratoria

Bajos niveles de VO_{2pico} parecen estar más relacionados con la disfunción muscular periférica que con factores

centrales, como limitaciones cardiovasculares y respiratorias [14].

Dos estudios han evaluado el VO_2 pico antes y después del TC, observando una recuperación significativa de este tras la operación [5], [10]. Este aumento es mayor durante el primer año, y solo se recupera parcialmente, luego se estabiliza y no se producen grandes mejoras incluso más allá de los 5 años [5].

Por su parte, Carter et al. [15], analizaron la evolución de distintos parámetros fisiológicos post-TC. Cuando se testó 1 año post-TC, observaron que el umbral aeróbico se alcanzaba rápidamente, la ventilación/minuto pico estaba relativamente baja (al 45% de la ventilación voluntaria máxima), el equivalente de CO_2 estaba ligeramente elevado, el espacio fisiológico muerto sobre el volumen tidal estaba ligeramente elevado, pero el gradiente alveolo-arterial de O_2 era normal. Además, la respuesta del volumen sistólico (pulso de oxígeno) era reducida en comparación con el grupo control (sujetos sanos). A los 5 años, no había grandes cambios en el VO_2 pico, pero sí había algunas mejoras en la FC_{pico} , pulso de oxígeno y el espacio fisiológico muerto sobre el volumen tidal.

Sin embargo, en estos estudios no se determina si los RTC hicieron un programa entrenamiento o, si al menos, fueron activos durante todo el seguimiento.

Con todo, la afectación de algunos parámetros fisiológicos se debe al desarrollo de defectos ventilatorios pre-TC. En la insuficiencia cardiaca (condición previa al TC) se observa un defecto ventilatorio restrictivo y la eficiencia del intercambio de gases se reduce. La capacidad de difusión está deteriorada y presente pre- y post-TC [5].

Por otra parte, como mencionamos en el anterior apartado, en un RTC relativamente en forma los predictores más importantes del VO_2 pico son factores periféricos: grasa corporal y capacidad del músculo para hacer ejercicio (esta última se midió como trabajo total, en Julios, durante 30 contracciones isocinéticas a $240^\circ/\text{s}$). Por otro lado, el sexo, la creatinina en sangre y la FC_{res} fueron menos predictivos del VO_2 pico. Esto sugiere que es importante aumentar la fuerza muscular, la capacidad del músculo para realizar ejercicio, mantener un bajo porcentaje de grasa corporal y un índice de masa corporal normal con el fin de alcanzar un mayor VO_2 pico post-TC [13].

Por último, debemos de prestar atención a las disminuciones en la capacidad máxima del ejercicio, pues, generalmente, es una forma de detectar la enfermedad arterial coronaria post-TC, la cual, es una de las formas más comunes de disfunción crónica del injerto cardiaco [5].

2.3. Músculo esquelético periférico

Es probable que haya una gran pérdida cualitativa y cuantitativa de la masa del músculo esquelético periférico debido a la inmovilización, el estado catabólico y la sepsis, que son comunes en enfermedades críticas [5].

La reducción en la vascularización y el desuso del músculo esquelético juegan un papel importante en la limitación de la capacidad para hacer ejercicio. Los pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada pre-TC parecen tener una proporción de fibras musculares tipo I reducida con un aumento proporcional de las fibras de tipo

IIB. Esto no parece cambiar a los 12 meses post-TC. No obstante, se puede dar una mejora en la actividad de las enzimas musculares que regulan el metabolismo glucolítico, oxidativo y de grasas, pero esto no ocurre en todos los estudios [5].

2.4. Densidad mineral ósea

La osteoporosis es prevalente entre los candidatos al TC, con tasas que varían entre el 13% y 23% pre-TC. La pérdida ósea significativa es común post-TC, con osteoporosis observada entre el 17% y 56% de los RTC. Esta pérdida ósea ocurre particularmente entre los 6 y 12 meses [16] y se asocia con un aumento del riesgo de fracturas del 18% al 36% durante este periodo. La densidad mineral ósea reducida pre- y postrasplante se ha atribuido a una variedad de factores de riesgo, incluyendo índice de masa corporal bajo, malabsorción y malnutrición, actividad física reducida, tabaquismo, inflamación, hipogonadismo, insuficiencia renal y regímenes inmunosupresores basados en glucocorticoides [16], [17].

3. EFECTOS DEL EJERCICIO

3.1. Incompetencia cronotrópica

Al comparar el entrenamiento interválico a alta intensidad (*high-intensity interval training*, HIIT) con el entrenamiento continuo a moderada intensidad (*moderate-intensity continuous training*, MICT) en un programa de 3 sesiones semanales durante 12 semanas [18], se ha visto que solamente con el HIIT hubo mejoras en la FC_{pico} y la FC_{res} , mientras que con ambos (HIIT y MICT), hubo mejoras en la recuperación de la FC tras el esfuerzo. No obstante, 5 meses después de la intervención hubo un marcado descenso de los efectos, lo que sugiere la necesidad de programas de intervención más frecuentes o continuados.

Otro estudio de 10 semanas de MICT con 2 a 3 sesiones por semana [19], observó un aumento significativo en la FC_{pico} y duración del ejercicio en el grupo intervenido en comparación con el grupo control. Por otro lado, un estudio que comparó HIIT y el tratamiento habitual [20], también observó mejoras significativas en la FC_{pico} .

Por su parte, en un estudio basado en el MICT con 5 sesiones a la semana durante 6 meses [21], se encontraron mejoras en la modulación autonómica y el control de los barorreceptores.

Una reciente revisión llevada a cabo por Neale et al. [6], encontró que los efectos del ejercicio sobre la PA han dado lugar a resultados equívocos. Algunos estudios [18], [22], muestran que el MICT durante 10 a 12 semanas, no mejora significativamente este parámetro; mientras que un estudio de 6 meses con 5 sesiones semanales de bicicleta a moderada intensidad, redujo la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) en comparación con el grupo control [21], sugiriendo la necesidad de programas de MICT más largos para obtener efectos beneficiosos. Aunque observaron una mayor reducción en la PAS en los grupos que entrenaron con alta intensidad en comparación con el grupo que entrenó a moderada intensidad (32). Esto está corroborado por el

estudio de Hermann et al. [23], el cual mostró un descenso significativo de la PAS después de 8 semanas de HIIT, aunque otro estudio [20] no encontró cambios significativos tras 1 año de HIIT.

3.2. Capacidad cardiorrespiratoria

En un estudio de 6 meses basado en el entrenamiento en bicicleta a moderada intensidad [21], se observó que el grupo de entrenamiento mejoró significativamente su ventilación/minuto y su VO_{2pico} en comparación con el grupo control; resultados que coinciden con un estudio de 10 semanas de duración basado en entrenamiento aeróbico [19], donde el VO_{2pico} incrementó en mayor medida en el grupo intervenido.

Además, en un programa combinado de entrenamiento aeróbico y fuerza durante 6 meses [24], se observó que el VO_{2pico} aumentaba significativamente en comparación con los controles, coincidiendo con otros dos estudios [22], [25].

Por otra parte, estudios que han analizado el efecto del HIIT en RTC [18], [20], [23], se han encontrado mejoras significativas en el VO_{2pico} de estos últimos en comparación con el grupo control y, también, con el grupo de MICT, además de demostrar que la intervención con HIIT es segura y bien tolerada. Un reciente metaanálisis [1], concluye que intervenciones de 8 a 12 semanas con HIIT en RTC, mejoran significativamente la FC_{pico} y el VO_{2pico} .

Basándonos en los dos apartados anteriores, una propuesta de entrenamiento aeróbico que garantice mejoras en cuanto a los factores hemodinámicos y el VO_{2pico} , debería de constar de 2 a 5 sesiones semanales durante, como mínimo, 6 meses, utilizando una combinación de MICT y HIIT con el fin de darle variabilidad al entrenamiento y, por lo tanto, conseguir mayor adherencia.

3.3. Fuerza y función muscular

Dos estudios [26], [27] de 6 meses de duración basados en el entrenamiento de fuerza, con 2-3 sesiones semanales donde se hizo 1 serie de 10-15 repeticiones al 50% de una repetición máxima (1RM), mostraron mejoras en la fuerza de los miembros superiores e inferiores, así como el aumento de la actividad enzimática metabólica del músculo.

Un programa combinado de entrenamiento aeróbico y de fuerza durante 6 meses [24], reveló mejoras en la carga de trabajo y la duración del ejercicio. Además, otros estudios observan mejoras en la fuerza [22], [25] y resistencia muscular [25].

Por su parte, un estudio de 12 semanas de duración sobre los efectos del MICT y del HIIT [18], mostró mejoras en ambos tipos de entrenamiento en la carga de trabajo. Un segundo estudio que comparó HIIT y el tratamiento habitual [20], observó mejoras significativas en la duración del test y la fuerza de cuádriceps e isquiotibiales [6].

Además, el entrenamiento físico después del TC muestra un aumento de la densidad mitocondrial y la actividad enzimática, lo que sugiere que la toxicidad de los fármacos inmunosupresores no impide la adaptación periférica al entrenamiento [5].

Por tanto, para mejorar la fuerza y la función muscular

se recomienda la combinación de entrenamiento aeróbico (ya descrito) y de fuerza, el cual debe constar de 2 a 3 sesiones semanales durante, como mínimo, 6 meses para garantizar mejoras. El entrenamiento de 10 a 15 repeticiones al 50% de 1RM es efectivo, aunque entrenamientos a mayor intensidad probablemente optimicen las mejoras, igual que ocurrió con el HIIT cuando se empezó a aplicar en RTC.

3.4. Densidad mineral ósea

Después de un programa de 6 meses de entrenamiento de la fuerza de los miembros superiores e inferiores (2 sesiones por semana) junto con trabajo de extensión lumbar (1 sesión por semana), la pérdida de densidad mineral ósea se redujo significativamente en el grupo intervenido en comparación con el control [28]. El principal hallazgo de este estudio fue que el entrenamiento de la fuerza fue osteogénico y restableció la densidad mineral ósea a niveles pre-TC, a pesar de la inmunosupresión continuada con glucocorticoides [6].

4. CONCLUSIONES

Se puede concluir que el ejercicio físico promueve mejoras en las variables hemodinámicas, cardiorrespiratorias, musculares y óseas en RTC. Se recomiendan programas que combinen entrenamiento aeróbico y de fuerza al menos 6 meses para asegurar mejoras significativas, con una frecuencia de más de 2 sesiones semanales para lograr dichas mejoras.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer a José Castro Piñero la tutorización del Trabajo Fin de Máster que dio lugar a la elaboración de este artículo.

REFERENCIAS

- [1] R. J. Perrier-Melo, F. A. M. dos S. Figueira, G. V. Guimarães, y M. da C. Costa, «High-Intensity Interval Training in Heart Transplant Recipients: A Systematic Review with Meta-Analysis», *Arq. Bras. Cardiol.*, vol. 110, n.º 2, pp. 188-194, 2018.
- [2] L. H. Lund, K. K. Khush, W. S. Cherikh, S. Goldfarb, A. Y. Kucheryavaya, B. J. Levvey, B. Meiser, J. W. Rossano, D. C. Chambers, R. D. Yusem, y J. Stehlik, «The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report—2017; Focus Theme: Allograft ischemic time», *J. Hear. Lung Transplant.*, vol. 36, n.º 10, pp. 1037-1079, oct. 2017.
- [3] F. González-Vilchez, M. Gómez-Bueno, L. Almenar-Bonet, M. G. Crespo-Leiro, J. M. Arizón del Prado, J. Delgado-Jiménez, I. Sousa-Casasnovas, V. Brossa-Loidi, J. M. Sobrino-Márquez, y J. González-Costelo, «Registro Español de Trasplante Cardíaco. XXVIII Informe Oficial de la Sección de Insuficiencia Cardíaca de la Sociedad Española de Cardiología (1984-2016)», *Rev. Española Cardiol.*, vol. 70, n.º 12, pp. 1098-1109, dic. 2017.

- [4] P. H. Brubaker y D. W. Kitzman, «Chronotropic Incompetence: Causes, Consequences, and Management», *Circulation*, vol. 123, n.º 9, pp. 1010-1020, mar. 2011.
- [5] T. J. Williams y M. J. McKenna, «Exercise limitation following transplantation», *Compr. Physiol.*, vol. 2, n.º 3, pp. 1937-1979, 2012.
- [6] J. Neale, A. C. Smith, y N. C. Bishop, «Effects of Exercise and Sport in Solid Organ Transplant Recipients», *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 96, n.º 4, pp. 273-288, abr. 2017.
- [7] M. Awad, L. S. C. Czer, M. Hou, S. S. Golshani, M. Goltche, M. De Robertis, M. Kittleson, J. Patel, B. Azarbal, E. Kransdorf, F. Esmailian, A. Trento, y J. A. Kobashigawa, «Early Denervation and Later Reinnervation of the Heart Following Cardiac Transplantation: A Review», *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 5, n.º 11, p. e004070, nov. 2016.
- [8] V. O. Carvalho, G. V. Guimãres, M. L. C. Vieira, A. M. Catai, V. Oliveira-Carvalho, S. M. Ayub-Ferreira, y E. A. Bocchi, «Determinants of peak VO₂ in heart transplant recipients», *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.*, vol. 30, n.º 1, pp. 9-15, 2014.
- [9] P.-L. Hsieh, Y.-T. Wu, y W.-J. Chao, «Effects of Exercise Training in Heart Transplant Recipients: A Meta-Analysis», *Cardiology*, vol. 120, n.º 1, pp. 27-35, 2011.
- [10] M. Yardley, L. Gullestad, y K. Nytrøen, «Importance of physical capacity and the effects of exercise in heart transplant recipients», *World J. Transplant.*, vol. 8, n.º 1, pp. 1-12, feb. 2018.
- [11] K. Nytrøen y L. Gullestad, «Exercise after heart transplantation: An overview», *World J. Transplant.*, vol. 3, n.º 4, p. 78, 2013.
- [12] K. Nytrøen, J. Myers, K. N. Chan, O. R. Geiran, y L. Gullestad, «Chronotropic Responses to Exercise in Heart Transplant Recipients», *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 90, n.º 7, pp. 579-588, jul. 2011.
- [13] K. Nytrøen, L. A. Rustad, E. Gude, J. Hallén, A. E. Fiane, K. Rolid, I. Holm, S. Aakhus, y L. Gullestad, «Muscular exercise capacity and body fat predict VO₂ peak in heart transplant recipients», *Eur. J. Prev. Cardiol.*, vol. 21, n.º 1, pp. 21-29, ene. 2014.
- [14] S. Mathur, T. Janaudis-Ferreira, L. Wickerson, L. G. Singer, J. Patcai, D. Rozenberg, T. Blydt-Hansen, E. L. Hartmann, M. Haykowsky, D. Helm, K. High, N. Howes, B. M. Kamath, L. Lands, S. Marzolini, y C. Sonnenday, «Meeting report: Consensus recommendations for a research agenda in exercise in solid organ transplantation», *Am. J. Transplant.*, vol. 14, n.º 10, pp. 2235-2245, 2014.
- [15] R. Carter, O. Al-Rawas, A. Stevenson, T. McDonagh, y R. Stevenson, «Exercise Responses Following Heart Transplantation: 5 Year Follow-Up», *Scott. Med. J.*, vol. 51, n.º 3, pp. 6-14, ago. 2006.
- [16] A. H. Lee, R. L. Mull, G. F. Keenan, P. E. Callegari, M. K. Dalinka, H. J. Eisen, D. M. Mancini, V. J. DiSesa, y M. F. Attie, «Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients», *Am. J. Med.*, vol. 96, n.º 1, pp. 35-41, ene. 1994.
- [17] T. K. M. Wang, S. O'Sullivan, G. D. Gamble, y P. N. Ruygrok, «Bone Density in Heart or Lung Transplant Recipients-A Longitudinal Study», *Transplant. Proc.*, vol. 45, n.º 6, pp. 2357-2365, jul. 2013.
- [18] C. H. Dall, M. Snoer, S. Christensen, T. Monk-Hansen, M. Frederiksen, F. Gustafsson, H. Langberg, y E. Prescott, «Effect of High-Intensity Training Versus Moderate Training on Peak Oxygen Uptake and Chronotropic Response in Heart Transplant Recipients: A Randomized Crossover Trial», *Am. J. Transplant.*, vol. 14, n.º 10, pp. 2391-2399, oct. 2014.
- [19] S. Keteyian, R. Shepard, J. Ehrman, F. Fedel, C. Glick, K. Rhoads, y T. B. Levine, «Cardiovascular responses of heart transplant patients to exercise training», *J. Appl. Physiol.*, vol. 70, n.º 6, pp. 2627-2631, jun. 1991.
- [20] K. Nytrøen, L. A. Rustad, P. Aukrust, T. Ueland, J. Hallén, I. Holm, K. Rolid, T. Lekva, A. E. Fiane, J. P. Amlie, S. Aakhus, y L. Gullestad, «High-Intensity Interval Training Improves Peak Oxygen Uptake and Muscular Exercise Capacity in Heart Transplant Recipients», *Am. J. Transplant.*, vol. 12, n.º 11, pp. 3134-3142, nov. 2012.
- [21] L. Bernardi, A. Radaelli, C. Passino, C. Falcone, C. Auguadro, L. Martinelli, M. Rinaldi, M. Viganò, y G. Finardi, «Effects of physical training on cardiovascular control after heart transplantation», *Int. J. Cardiol.*, vol. 118, n.º 3, pp. 356-362, jun. 2007.
- [22] M. Haykowsky, D. Taylor, D. Kim, y W. Tymchak, «Exercise Training Improves Aerobic Capacity and Skeletal Muscle Function in Heart Transplant Recipients», *Am. J. Transplant.*, vol. 9, n.º 4, pp. 734-739, abr. 2009.
- [23] T. S. Hermann, C. H. Dall, S. B. Christensen, J. P. Goetze, E. Prescott, y F. Gustafsson, «Effect of High Intensity Exercise on Peak Oxygen Uptake and Endothelial Function in Long-Term Heart Transplant Recipients», *Am. J. Transplant.*, vol. 11, n.º 3, pp. 536-541, mar. 2011.
- [24] J. A. Kobashigawa, D. A. Leaf, N. Lee, M. P. Gleeson, H. Liu, M. A. Hamilton, J. D. Moriguchi, N. Kawata, K. Einhorn, E. Herlihy, y H. Laks, «A Controlled Trial of Exercise Rehabilitation after Heart Transplantation», *N. Engl. J. Med.*, vol. 340, n.º 4, pp. 272-277, ene. 1999.
- [25] Y.-T. Wu, C.-L. Chien, N.-K. Chou, S.-S. Wang, J.-S. Lai, y Y.-W. Wu, «Efficacy of a Home-Based Exercise Program for Orthotopic Heart Transplant Recipients», *Cardiology*, vol. 111, n.º 2, pp. 87-93, 2008.
- [26] R. W. Braith, P. M. Magyar, G. L. Pierce, D. G. Edwards, J. A. Hill, L. J. White, y J. M. Aranda, «Effect of Resistance Exercise on Skeletal Muscle Myopathy in Heart Transplant Recipients», *Am. J. Cardiol.*, vol. 95, n.º 10, pp. 1192-1198, may 2005.
- [27] R. W. Braith, M. A. Welsch, R. M. Mills, J. W. Keller, y M. L. Pollock, «Resistance exercise prevents glucocorticoid-induced myopathy in heart transplant recipients», *Med. Sci. Sports Exerc.*, vol. 30, n.º 4, pp. 483-9, abr. 1998.
- [28] R. W. Braith, «Exercise training in patients with CHF and heart transplant recipients», *Med. Sci. Sports Exerc.*, vol. 30, n.º 10 Suppl, pp. S367-78, oct. 1998.



Tomás Dobarro López recibió el título de Graduado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte por la Universidad de Coruña en 2017 y de Máster Universitario en Actividad Física y Salud por la Universidad de Cádiz en 2018.

Readaptación Físico Deportiva para la Rotura de Ligamento Cruzado Anterior en Futbolista Semiprofesional

Bernardino Gaona Robles

Resumen—Proponemos un protocolo de readaptación para la rotura de ligamento cruzado anterior realizado a un futbolista semiprofesional y llevado a cabo por un equipo de trabajo multidisciplinar. El protocolo se divide en 4 fases, con objetivos y criterios para progresar en cada una de ellas. El futbolista recibió el alta deportiva 27 semanas después de la operación.

Palabras Claves— Fútbol, lesión, ligamento cruzado anterior, readaptación, vuelta a la competición.

1. INTRODUCCIÓN

La lesión de ligamento cruzado anterior (LCA) es muy común en el fútbol y por su complejidad, presenta un reto para el equipo de trabajo multidisciplinar, en nuestro caso formado por médico, fisioterapeuta, psicólogo, readaptador y preparador físico.

El objetivo de nuestro artículo es devolver al deportista al estado de forma que tenía justo antes de lesionarse y, si cabe, mejorarlo aún más modificando patrones de movimiento y detectando déficits para reducir lo máximo posible el riesgo de recidiva. Además, hoy en día con los medios que disponemos, cada vez es menos probable que queden secuelas de ciertas lesiones, pero como no todos podemos disponer de ellos, presentamos nuestra propia propuesta de readaptación, revisando la literatura científica, con unos medios asequibles para la mayoría de la población.

2. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA LESIÓN

2.1. Descripción del sujeto

Se trata de un futbolista semiprofesional de 25 años de edad. Juega en categoría nacional desde su etapa juvenil y su demarcación es lateral derecho. Por su historial clínico tiene cierto riesgo, en lo que a genética se refiere, de rotura del LCA pues tiene antecedentes familiares cercanos y además a sus 18 años ya padeció esta lesión en dos ocasiones en su pierna izquierda. En cuanto a su somatotipo, tiene un alto componente mesomorfo por lo que presenta buenos niveles de fuerza. Sufrió una rotura completa del LCA, del ligamento lateral interno y del menisco externo de su pierna derecha.

2.2. La rodilla

La rodilla es una articulación de tipo condilea, con una serie de movimientos mayores que son la flexo-extensión, y una serie de movimientos menores compuestos por las rotaciones y ciertos grados de aducción y abducción.

En cuanto a la estabilidad, tienen un papel fundamental los ligamentos, en concreto el LCA evita el desplazamiento hacia atrás de la tibia con respecto al fémur, por lo que es fundamental un buen estado de la musculatura isquiotibial para reducir el riesgo de lesión de LCA.

2.3. Mecanismo de lesión

Según Ramos, J., López-Silvarrey, F., Segovia, J., Martínez, H., & Legido, J., [1], el mecanismo lesional más común en LCA es indirecto, es decir, sin contacto, por lo que nos hace pensar que se puede trabajar para reducir el riesgo de lesión significativamente.

Por otro lado, Walden, M., et al. [2] detectaron tres situaciones de alto riesgo en el fútbol profesional, de las cuales señalan que la más común se produce durante el "pressing". Seguido de este, se encuentra la acción de volver a la posición de equilibrio tras un golpeo o tras un salto de cabeza.

En nuestro caso, la lesión se produjo cuando el jugador iba a presionar a un rival y cambió la dirección de la carrera para interceptar el balón, en ese momento se produjo una semiflexión de la rodilla derecha con varo y rotación interna de la tibia sobre el fémur, y en consecuencia, el jugador cayó directamente al suelo.

2.4. Factores de riesgo

Existen una serie de factores que pueden aumentar la probabilidad de lesión, en concreto para el LCA, Romero-Moraleda, B. et al. [3] realizaron una revisión de los más influyentes en el fútbol, de los cuales destacamos: lesión previa, fatiga muscular, pie pronador, rotación externa de la tibia, el ángulo Q, debilidad del glúteo medio, laxitud de la rodilla, desequilibrios neuromusculares, el tipo de calzado y la temperatura y el tipo de césped.

Para tenerlos todos bajo control, es fundamental realizar valoraciones a través de test validados que permitan detectar cualquier amenaza y así disminuir los factores de

riesgo. En nuestro caso, el deportista se lesionó cuando disputaba un partido en césped artificial, sin regar y con tacos de grandes dimensiones, lo que aumenta la fricción y, por tanto, el riesgo de lesión.

2.5. Epidemiología lesional

Una de las lesiones de mayor gravedad que puede sufrir un deportista es la rotura del LCA. Según Zahínos, J. I., González, C., & Salinero, J. [4], en el fútbol el 70% de los casos se producen sin contacto y se padece entre 0,4 y 1,7 por cada 1000 horas de exposición. Además, el LCA es el ligamento más lesionado de la rodilla (hasta el 50% de los

casos) y hay más riesgo de lesionarse durante la competición que en las sesiones de entrenamiento (80% en competición).

3. METODOLOGÍA

3.1. El protocolo

Nuestro protocolo nace de la fusión de las propuestas de Paredes, V., Martos, S. & Romero, B. [5], de Paredes, V., Estévez, J. L., & González, A. [6] y de la Guía MOON de Wright, R., et al. [7].

TABLA 1
PROPUESTA DE PROTOCOLO PARA LA ROTURA DE LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR

Fase	Nivel	Duración	Competencia	Objetivos	Criterios para progresar
Fase 1	Nivel 1	8 semanas	Médico. Fisioterapeuta. Readaptador.	<ul style="list-style-type: none"> - Ganar rango de movilidad. - Minimizar el dolor y la inflamación. - Evitar atrofia muscular. - Iniciar patrón de marcha. - Trabajar otros grupos musculares sin comprometer a la rodilla lesionada. - Iniciar entrenamiento de fuerza. 	<ul style="list-style-type: none"> - Andar sin muletas. - Grado articular: una limitación máxima de 5° de extensión activa y 110° de flexión activa.
	Nivel 2	4 semanas	Fisioterapeuta. Readaptador.	<ul style="list-style-type: none"> - Recuperar y perfeccionar el patrón de marcha. - Ganar el Rango Óptimo de Movimiento (ROM). - Evolucionar en el entrenamiento de fuerza. - Trabajar la percepción postural y espacial. 	<ul style="list-style-type: none"> - ROM prácticamente completo. - Patrón de marcha correcto. - Mínimo 6 puntos en una escala de limitación en actividades diarias de 0 a 10 puntos (0 -> no puedo hacer nada; 10 -> lo puedo hacer todo sin molestias).
Fase 2	Nivel 3	4 semanas	Fisioterapeuta. Readaptador.	<ul style="list-style-type: none"> - Ganar o mantener el ROM. - Mejorar niveles de fuerza muscular. - Iniciar la carrera y los saltos. - Evitar el valgo dinámico. 	<ul style="list-style-type: none"> - ROM completo. - Evoluciona adecuadamente en el entrenamiento de fuerza. - Mínimo 7 puntos en una escala de limitación en actividades diarias de 0 a 10 puntos.
	Nivel 4	4 semanas	Readaptador.	<ul style="list-style-type: none"> - Correr y saltar de forma óptima. - Restaurar el gesto deportivo. - Recuperar niveles de fuerza. - Evolucionar en el entrenamiento de fuerza. 	<ul style="list-style-type: none"> - Técnica adecuada de carrera y saltos. - Correr y saltar sin molestias. - Mínimo 8 puntos en una escala de limitación en actividades diarias de 0 a 10 puntos.
Fase 3	Nivel 5	3 semanas	Readaptador.	<ul style="list-style-type: none"> - Introducir velocidad a los ejercicios. - Iniciar los cambios de dirección (CDD). - Evolucionar en la técnica deportiva. - Orientar el entrenamiento físico hacia las demandas del deporte. 	<ul style="list-style-type: none"> - Igualar niveles de fuerza entre los miembros inferiores. - Técnica correcta en CDD. - Mínimo 9 puntos en una escala de limitación en actividades diarias de 0 a 10 puntos.
	Nivel 6	4 semanas	Médico. Fisioterapeuta. Readaptador. Psicólogo. Preparador físico.	<ul style="list-style-type: none"> - Introducir situaciones tácticas. - Reinsertar al sujeto con el grupo. - Potenciar el rendimiento del sujeto. - Conseguir el alta deportiva. 	<ul style="list-style-type: none"> - 10 puntos en una escala de limitación en actividades diarias de 0 a 10 puntos. - Completar una semana de entrenamientos con el grupo sin complicaciones.

3.2. Pilares básicos

Existen ciertos aspectos, que hemos determinado como pilares básicos, que son fundamentales para la recuperación de la lesión, estos son:

1. Capacidades físicas: centrándonos en el trabajo de fuerza y flexibilidad principalmente [5], realizando una progresión coherente dentro de todas sus manifestaciones y partiendo de lo inespecífico hacia lo específico (calidad > cantidad).
2. Core: debe estar presente en todos los programas de prevención y readaptación ya que una alteración de este contribuye a la aparición de lesiones [8]. Además una falta de acondicionamiento de la musculatura del core, puede variar la mecánica de aterrizaje en saltos, afectando directamente a la biomecánica de la rodilla y a la estabilidad [9].

3. Propiocepción: Al trabajar la propiocepción, mejoramos la velocidad de conversión entre el estímulo mecánico y la señal neural, por lo que aumenta la rapidez de respuesta. De esta manera, se pueden evitar situaciones de riesgo al corregir la posición corporal de manera rápida y eficaz.
4. Habilidad deportiva: tiene mucha importancia en los compases finales de la readaptación, pues el entrenamiento ahí debe ir enfocado hacia las demandas del deporte [7]. Para llegar a un nivel de mayor especificidad debemos analizar el comportamiento del jugador en el campo antes de lesionarse y enfocar el entrenamiento en función de sus características para que no se vea influenciado por la lesión. Además, debemos intentar incluir elementos del deporte durante todo el proceso de recuperación pues al fin y al cabo es la motivación que tiene el

lesionado para recuperarse y nos ayudará en su estado emocional.

3.3. Cuantificación del proceso

Cuantificar en un proceso de recuperación es fundamental dado que ponemos datos numéricos a un proceso cualitativo, lo que nos permite llevar un mayor control de ciertos aspectos de la recuperación. Como no disponemos de grandes recursos, utilizamos escalas subjetivas de Borg modificadas (de 0 a 10 puntos) para controlar el wellness, de manera semanal, y la sintomatología. Esta última la medimos 2 horas antes de la sesión, durante la sesión y 30 minutos después. En cuanto a la carga de las sesiones, la cuantificamos mediante percepción subjetiva del esfuerzo de 0 a 10 puntos y controlando el tiempo de compromiso motor dentro de las sesiones, que en función del momento, al principio priorizábamos el trabajo en gimnasio y a medida que íbamos avanzando, se reducía para incrementar el trabajo en campo.

En cuanto a la planificación, dividimos el tiempo en macrociclos (fases), mesociclos (niveles) y microciclos (semanas). Estos últimos se dividían en:

- Microciclo de ajuste: se llevan a cabo valoraciones para ver la progresión del sujeto y para preparar al organismo para nuevas adaptaciones. Fue el primer microciclo de cada macrociclo.
- Microciclo de carga: es el más abundante pues lo que buscamos es producir nuevas adaptaciones en el deportista en cuanto a contenidos relevantes.
- Microciclo de competición: somete al sujeto al nivel de carga del equipo y simula la competición. Fue el último microciclo de la readaptación.

La carga acumulada de cada microciclo se incrementó de manera progresiva siguiendo la propuesta de Gabbet, T. J. [10] utilizando el ratio de carga aguda/crónica.

Además, se realizaron los siguientes test para comprobar la evolución del sujeto: sit and reach, flamingo test, phantom chair, 1 RM de cuádriceps e isquiotibiales, Y-balance test, 4x10m shuttle run y hop tests propuesto por la Guía MOON [8]. Estos tests se realizaron en función de la aptitud del deportista para cada uno de ellos.

4. CONCLUSIONES

Tras 27 semanas, el jugador consiguió el alta deportiva y estuvo apto para volver a la competición. Por tanto podemos decir que la propuesta es válida para este tipo de población, sin olvidar el principio de individualización, siendo también una propuesta válida para otras modalidades deportivas siempre que se orienten los últimos niveles al deporte en cuestión. Además, es fundamental controlar el aspecto emocional durante todo el proceso, pues tiene bastante influencia en el tiempo y en la evolución de la recuperación.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer a Miguel Ángel Rosety Rodríguez su ayuda para la elaboración del trabajo.

REFERENCIAS

- [1] Ramos Álvarez, J. J., López-Silvarrey, F. J., Segovia Martínez, J. C., Martínez Melen, H., & Legido Arce, J. C. "Rehabilitación del paciente con lesión del ligamento cruzado anterior de la rodilla (LCA). Revisión". *Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y del Deporte*, vol. 8, no. 29, pp. 62-92, Mar 2008, ISSN: 1577-0354.
- [2] Waldén, M., Krosshaug, T., Bjørneboe, J., Andersen, T. E., Faul, O., & Häggglund, M. "Three distinct mechanisms predominate in non-contact anterior cruciate ligament injuries in male professional football players: a systematic video analysis of 39 cases". *Br J Sports Med.*, vol. 49, no. 22, Apr 2015, doi: 10.1136/bjsports-2014-094573
- [3] Romero-Moraleda, B., Cuéllar, Á., González, J., Bastida, N., Echarri, E., Gallardo, J., & Paredes, V. "Revisión de los factores de riesgo y los programas de prevención de la lesión del ligamento cruzado anterior en fútbol femenino: propuesta de prevención". *Revista Internacional de Ciencias del Deporte*, vol. 13, no. 48, pp. 117-138, Apr 2017, doi: 10.5232/ricyde.
- [4] Zahínos, J. I., González, C., & Salinero, J. "Epidemiological study of the injuries, the processes of readaptation and prevention of the injury of anterior cruciate ligament in the professional football". *Journal of sport and health research*, vol. 2, no. 2, pp. 139-150, Jan 2010, ISSN: 1989-6239.
- [5] Paredes Hernández, V., Martos Varela, S., & Romero Moraleda, B. "Propuesta de readaptación para la rotura del ligamento cruzado anterior en fútbol". *Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y del Deporte*, vol. 11, no. 43, pp. 573-591, Sep 2011, ISSN: 1577-0354.
- [6] Paredes, V., Estévez, J. L., & González, A. "La Readaptación táctica de Lesiones en el Fútbol Profesional: Estudio de Caso". *Revista de Preparación Física en Fútbol*. no. 13, pp. 1889-16, Aug 2014, ISSN: 1889-5050.
- [7] Wright, R. W., Haas, A. K., Anderson, J., Calabrese, G., Cavanaugh, J., Hewett, T. E., & MOON Group. "Anterior cruciate ligament reconstruction rehabilitation: MOON guidelines". *Sports Health*, vol. 7, no. 3, pp. 239-243, May 2015, doi: 10.1177/1941738113517855.
- [8] McCall, A., Carling, C., Nedelec, M., Davison, M., Le Gall, F., Berthoin, S., & Dupont, G. "Risk factors, testing and preventative strategies for non-contact injuries in professional football: current perceptions and practices of 44 teams from various premier leagues". *Br J Sports Med*, vol. 48, no. 18, pp. 1352-7, Sep 2014, doi: 10.1136/bjsports-2014-093439.
- [9] Myer, G. D., Ford, K. R., & Hewett, T. E. "Methodological approaches and rationale for training to prevent anterior cruciate ligament injuries in female athletes". *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, vol 14, no. 5, pp. 275-285, Oct 2004, doi: 10.1111/j.1600-0838.2004.00410.x.
- [10] Gabbett, T. J. "The training-injury prevention paradox: should athletes be training smarter and harder?". *Br J Sports Med*, Jan 2016, doi: 10.1136/bjsports-2015-095788.



Bernardino Gaona Robles recibió el título de graduado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte con mención en salud, por la Universidad de Cádiz, en 2018. Comenzó en la Temp. 2014/15 en las categorías inferiores del C.D. Guadalcaçín y en la 2016/17, con tan solo 20 años de edad, llegó a ser el preparador físico y el readaptador físico-deportivo del primer equipo, que militaba en la 3ª

División de España. Actualmente se encuentra en la cantera del Cádiz C.F. y lo acompaña con estudios de posgrado.

Asociación entre actividad física y condición física con el dolor y la depresión: revisión narrativa

Lucía Godino-Prior

Resumen—Partiendo de la hipótesis sobre los beneficios de la actividad física (AF) y la condición física (CF) con respecto al dolor y la depresión, se estableció como objetivo revisar y analizar los resultados de la evidencia científica existentes sobre la asociación de la AF y la CF con el dolor y la depresión en niños y adolescentes. Para ello, se seleccionaron de las bases de datos PubMed y APA un total de 14 estudios tras lectura del abstract y aplicación de los criterios de inclusión y exclusión. Los estudios mostraron variedad en los resultados, pero se destacó la asociación inversa de la AF tanto con dolor como con depresión, además de los hallazgos sobre fibromialgia juvenil (JFM). Así, esta revisión aporta evidencia científica que podría ser utilizada para el desarrollo de programas que utilicen la AF como herramienta en la disminución del dolor y la depresión en niños y adolescentes.

Palabras Claves—Actividad física, Condición física, Depresión, Dolor, Niños y adolescentes.

1. INTRODUCCIÓN

El dolor es una experiencia sensorial desagradable asociada a un daño potencial que incluye tanto componentes físicos como psicológicos [1], [2]. El dolor de cabeza, el dolor de estómago y el dolor musculoesquelético no específico son aquellos con mayor incidencia y prevalencia en niños y adolescentes [3]–[5]. El dolor, asociado a otros factores del estilo de vida de niños y adolescentes, se relaciona con limitaciones para la práctica de actividades escolares o participación en deportes, además del consecuente absentismo escolar e inhibición de la participación en actividades sociales propias de la etapa de desarrollo [6].

Por otro lado, la depresión es un trastorno mental que genera baja autoestima, pérdidas de apetito o sueño, y desinterés [7]. Las mayores consecuencias de la depresión en niños y adolescentes son el incremento de la mortalidad, la tasa de suicidio y homicidios, el aumento de comportamientos agresivos y del consumo de drogas, la disminución de la actividad productiva e incremento de los costos sanitarios [8]. Además, la depresión se asocia a la evitación de la práctica de AF [9].

Ambas patologías, dolor y depresión, pueden llegar a ocasionar problemas de salud importantes y ser causa de discapacidad y enfermedad tanto en niños y adolescentes, como de manera prospectiva en edad adulta [10]–[12].

Teniendo en cuenta los beneficios de la AF y la CF en niños y adolescentes tanto a nivel físico como a nivel psíquico, resulta evidente la necesidad de tener ambas e cuenta para el trabajo con niños y adolescentes que puedan presentar dolor y/o depresión [13], [14].

Partiendo sobre estas premisas, se establecen los siguientes objetivos:

1. Revisar la literatura científica existente sobre la asociación de la AF y la CF con el dolor y la depresión en niños y adolescentes.
2. Analizar los resultados existentes sobre la relación de la AF y la CF con el dolor y la depresión en niños y adolescentes.
3. Estudiar cómo se asocia la AF y la CF con el dolor y la depresión en niños y adolescentes sanos y/o con algún tipo de patología relacionada con el dolor.

2. METODOLOGÍA

2.1. Estrategias de Búsqueda

Se realizaron búsquedas de artículos científicos en las bases de datos PubMed y APA. Se utilizaron los operadores booleanos AND y OR para combinar las siguientes palabras en ambas bases de datos: actividad física y dolor (physical activity and pain or ache), actividad física y dolor crónico (physical activity and chronic pain), actividad física y sufrimiento (physical activity and suffering), actividad física y calidad de vida (physical activity and quality of life), actividad física y depresión (physical activity and depression), ejercicio físico y dolor (physical exercise and pain or ache), ejercicio físico y dolor crónico (physical exercise and chronic pain), ejercicio físico y sufrimiento (physical exercise and suffering), ejercicio físico y calidad de vida (physical exercise and quality of life), ejercicio físico y depresión (physical exercise and depression), condición física y dolor (physical fitness and pain or ache), condición física y dolor crónico (physical fitness and chronic pain), condición física y sufrimiento (physical fitness and suffering), condición física y calidad de vida (physical fitness and quality of life) y condición física y depresión (physical fitness and depression).

2.2. Criterios de Inclusión y Exclusión

En la selección de artículos científicos se tuvo en cuenta el rango de edad de la muestra, limitándolo entre los 6 y los 18 años. No se establecieron límites en la fecha de publicación de artículos, incluyendo todos aquellos estudios y revisiones, tanto en inglés como en castellano, publicados en revistas JCR hasta Mayo de 2018, que tuvieran acceso completo al texto y cuyos objetivos abordaran la asociación de la AF y la CF con el dolor y la depresión en niños y/o adolescentes. Se incluyeron tanto poblaciones sanas como aquellas que presentaran patologías relacionadas con el dolor sin establecer límite en el sexo de la muestra. Fueron excluidos aquellos artículos experimentales que solo eran propuestas de programas con resultados hipotéticos.

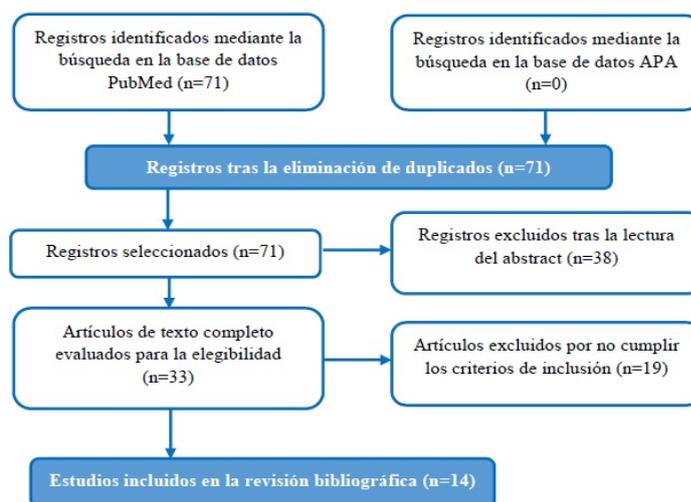


Figura 1. Diagrama de flujo.

3. RESULTADOS

Tras la eliminación de duplicados, la lectura del abstract y la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, la búsqueda quedó reducida a un total de 14 artículos (Figura 1), de los cuales 1 relaciona el ejercicio físico con el dolor y la depresión, 8 relacionan la AF con el dolor y la depresión, 4 relacionan la CF con el dolor y la depresión, y 1 estudia tanto AF como CF asociada al dolor y la depresión.

El resumen de resultados se encuentra en la Tabla 1, en la cual, además de señalar las variables que se analizan en cada artículo y la presencia o no de asociación inversa entre AF y dolor, AF y depresión, así como la presencia de asociación combinada de dolor y depresión con AF; se diferencia entre niños y adolescentes.

4. DISCUSIÓN

Todos los artículos estudiaron adolescentes, mientras que solo 3 artículos trataron también con niños. Esto puede ser debido a que los niños presentan menor cantidad de conductas perjudiciales para la salud, así como niveles inferiores de dolor y depresión que los adolescentes.

4.1. Actividad Física y Dolor

Adolescentes con más dolor mostraron mayor limitación para la práctica de AF puesto que surge una conducta de desinterés y desapego a causa del miedo a sufrir dolor durante la AF [15], [16]. En el sentido contrario, una mayor práctica de AF genera disminuciones en el dolor [15], [17]–[20] a causa de una disminución de las conductas sedentarias las cuales se caracterizan por la adopción de posturas antihigiénicas [15], [18], [19], muchas de las cuales suelen ir ligadas a actividades frente a pantalla que implican alta estimulación [20]. También se hallaron diferencias en cuanto al volumen de AF practicado, pudiendo afirmar que un mayor volumen semanal de práctica de AF genera mayores disminuciones en el dolor [18]–[20]. Con respecto a la intensidad, solo un estudio mostró que la práctica de actividad física vigorosa (AFV) produce mayores disminuciones de dolor que la práctica de AF ligera/moderada [19]. Sin embargo, esta asociación no es significativa, por lo que este aspecto debe

TABLA 1
RESUMEN DE RESULTADOS

Art	Rango de edad		A F	CF		Asociación inversa con dolor			Asociación inversa con depresión			Combinación dolor + depresión		
	N	A		C R F	F Z A	SI	NO	N S	SI	NO	N S	SI	NO	N E
[23]		X	X			X					X	X		
[24]	X	X		X		X			X					X
[17]		X	X			X					X			X
[25]		X		X	X	X					X			X
[18]		X	X			X					X	X		
[20]		X	X			X					X	X		
[19]		X	X			X			X			X		
[26]		X	X				X			X				X
[27]	X	X			X		X			X				X
[28]	X	X		X		X			X					X
[16]		X	X			X			X			X		
[29]		X	X			X				X				X
[15]		X	X			X			X			X		
[30]		X	X		X		X			X				X

Leyenda: Art: artículo; N: niños; A: adolescentes; AF: actividad física; CF: condición física; CRF: capacidad cardiorrespiratoria; FZA: fuerza; NS: no se sabe; NE: no estudiado.

ser tratado en futuras investigaciones. Además, en un estudio se encontró diferencia entre sexos, mostrando en el grupo de sujetos sanos que los chicos eran más activos que las chicas y por el contrario, en el grupo de sujetos con dolor, las chicas eran más activas que los chicos [15]. Esta última asociación se contrapone a otros estudios que muestran que los chicos son significativamente más activos que las chicas [21], de manera que en esta disparidad de

resultados encontramos un punto de interés para futuras investigaciones, aunque según algunos autores puede ser debido a que las mujeres suelen utilizar estrategias de soporte emocional y social, como puede ser la práctica de AF, para afrontar el dolor, mientras que los hombres lo enfrentan de forma más introspectiva [22].

En contraposición a estos hallazgos solo se encontraron 3 estudios que mostraron una asociación positiva entre AF y dolor en niños y adolescentes. Por una parte, creemos que esta diferencia puede ser debida al sesgo de muestra, el cual limitó la inclusión de sujetos a aquellos adolescentes con un índice de masa corporal (IMC) inferior a 28 kg/m², resultando un grupo con menor prevalencia de dolor [17], [30]. Por otra parte, la diferencia de resultados también puede ser explicada por el uso de una herramienta subjetiva para la evaluación de la AF, la cual analizó el tiempo destinado a la práctica de determinadas actividades, sin incidir en las dificultades encontradas para la ejecución de las mismas, hallando similitud en el tiempo total de AF de adolescentes sanos y adolescentes con dolor, aun existiendo diferencias en las dificultades encontradas durante el tiempo de práctica [26]. En cualquier caso, son necesarios un mayor número de estudios para aclarar este aspecto.

4.2. Actividad Física y Depresión

Tan solo 2 investigaciones muestran asociación inversa que explica cómo altos niveles de depresión generan una disminución en la práctica de AF en niños y adolescentes [15], [16]. En otros 2 estudios se encontró asociación positiva entre AF y depresión debido, por un lado, al sesgo de muestra establecido, el cual solo incluyó a aquellos adolescentes con un IMC inferior a 28 kg/m², obteniendo así, un grupo con mayor prevalencia de depresión [30]; y por otro lado, a causa de la utilización de una herramienta subjetiva para la valoración de la AF que no evaluó las dificultades presentadas por los sujetos para su práctica, factor que se encuentra positivamente asociado con la depresión [26]. Por lo tanto, las asociaciones entre AF y depresión en esta población no son concluyentes, generando la necesidad de realizar más investigaciones sobre esta línea.

4.3. Asociación Combinada del Dolor y la Depresión con la Actividad Física

Muchos estudios muestran una relación positiva entre dolor y depresión [17], [19]. El dolor genera limitaciones para la práctica de AF [15], [16], [18], [20], las cuales se incrementan con la presencia de depresión debido a que esta se encuentra asociada a las creencias de evitación de la práctica de AF por miedo, que surgen por la presencia de un evento doloroso previo durante la práctica de AF [15], [16]. De forma opuesta, la práctica de AF disminuye el dolor, aunque esta asociación se ve disminuida cuando se tiene en cuenta la depresión [18]. Además, la práctica de AF y la satisfacción con la misma disminuyen los niveles de depresión, lo que en conjunto genera menor nivel de dolor que si solo se tiene en cuenta la AF [19].

Sin embargo, en el resto de estudios no se atañe este efecto combinado del dolor y la depresión sobre la AF [30], [26], siendo un aspecto bastante relevante.

4.4. Condición Física y Dolor

Se han encontrado pocos artículos sobre la asociación entre CF y dolor en niños y adolescentes. Para la capacidad cardiorrespiratoria se halló una asociación inversa con el dolor tanto en niños como en adolescentes [28], [24]. Por el contrario, para la fuerza existe mayor controversia, ya que aunque algunos autores hallaron relación inversa entre fuerza y dolor [30], otros estudios no muestran ningún tipo de asociación significativa [27], por lo que encontramos un vacío en la literatura que requiere ser llenado.

No se hallaron estudios que analizaran la relación de la capacidad motora u otros componentes de la CF con el dolor.

4.5. Condición Física y Depresión

No se han hallado numerosos estudios para la asociación de CF con depresión, si bien, en cuanto a la capacidad cardiorrespiratoria, se encontraron resultados que la asocian inversamente con la depresión en niños y adolescentes [28], [24]. Además, una baja capacidad cardiorrespiratoria se encuentra asociada a un mayor riesgo de sufrir patologías, que a su vez, son desencadenantes de la depresión [28].

En el caso de la fuerza no se han encontrado estudios que traten las posibles asociaciones en niños y adolescentes, aunque en estudios realizados en adultos la fuerza de presión manual se asocia inversamente con los síntomas depresivos [31], por lo que es muy probable que también se de esta relación en niños y adolescentes.

4.6. Fibromialgia Juvenil

La JFM se trata de una patología poco frecuente por lo que los pocos estudios hallados solo tratan grupos de adolescentes. Las investigaciones mostraron relaciones negativas entre AF y dolor [23]. El efecto de la práctica regular de AF sobre el dolor se ve aumentado cuando se llevan a cabo simultáneamente terapias de enfrentamiento al dolor y los problemas [23]. A su vez, dentro de los adolescentes con JFM que son capaces de realizar AFV, aquellos más activos obtienen menores niveles de dolor que los menos activos [29]. Este último aspecto también se observó para la asociación de AF con depresión, aunque únicamente en el informe parental, ya que los padres encontraban mayor facilidad para denotar la falta de práctica de AF de sus hijos, mostrando de este modo la necesidad de evaluar a través de métodos subjetivos y objetivos la práctica de AF, así como de monitorizarla dentro y fuera de investigaciones [29].

Por otra parte, para la asociación de la CF con el dolor y la depresión en adolescentes con JFM, no se mostraron asociaciones. Sin embargo, se halló evidencia que muestra como adolescentes con JFM que presentan limitaciones físicas a causa del dolor pueden generar disminución en el torque de fuerza del tren inferior [25]. Además, en población adulta se han encontrado muchos estudios que

muestran asociación inversa de la CF tanto con el dolor como con la depresión [32], [33], por lo que es probable que estas relaciones también tengan lugar en adolescentes con JFM.

5. CONCLUSIONES

La AF es una herramienta válida para la reducción del dolor y la depresión en niños y adolescentes sanos o con patologías dolorosas. Además, el efecto combinado del dolor y la depresión genera niveles bajos de AF en adolescentes, asociación que debe ser más estudiada y considerada en el trabajo preventivo. Por otra parte, la CF se asocia con el dolor y la depresión en su componente aeróbico, mientras que para la fuerza se necesitan más estudios concluyentes.

En adolescentes con JFM se recomienda la práctica de AF para disminuir el dolor de la enfermedad y la depresión, así como el trabajo con programas combinados para aumentar la adherencia y el volumen de AF. Se requieren más investigaciones sobre la asociación de la CF con el dolor y la depresión en adolescentes con JFM.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Carmen Padilla por su constante interés y apoyo en la elaboración de esta revisión.

REFERENCIAS

- [1] IASP, "Pain,." 1994. [Online]. Available: <http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698#Pain>.
- [2] N. Becker, A.B. Thomsen, A.K. Olsen, P. Sjogren, P. Bech y J. Eriksen, "Pain epidemiology and health related quality of life in chronic non-malignant pain patients referred to a Danish multidisciplinary pain center," *Pain*, vol. 79, pp. 393–400, 1997.
- [3] T.M. Lateef, K.R. Merikangas, J. He, A. Kalaydjian, S. Khoromi, E. Knight y K. Nelson, "Headache in a national sample of American children: Prevalence and comorbidity," *J. Child Neurol.*, vol. 24, pp. 536–543, 2009.
- [4] V.P. Merlijn, J.A. Hunfeld, J.C. van der Wouden, A.A. Hazebroek-Kampschreur, J. Passchier y B.W.Koes, "Factors related to the quality of life in adolescents with chronic pain,." *Clin. J. Pain*, vol. 22, pp. 306–315, 2006.
- [5] C.W. Perquin, A.A. Hazebroek-Kampschreur, J.A. Hunfeld, A.M. Bohnen, L.W. Van Suijlekom-Smit, J. Passchier y J.C. Van der Wouden, "Pain in children and adolescents: a common experience,." *Pain*, vol. 87, pp. 51–58, 2000.
- [6] S. Kashikar-Zuck, K.R. Goldschneider, S.W. Powers, M.H. Vaught y A.D. Hershey, "Depression and functional disability in chronic pediatric pain,." *Clin. J. Pain*, vol. 17, no. 4, pp. 341–349, 2001.
- [7] OMS, "Depresión: tipos y síntomas,." 2018. [Online]. Available: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
- [8] G. Pardo, A. Sandoval y D. Umbarila, "Adolescencia y Depresión," *Rev. Colomb. Psicol.*, vol. 13, pp. 17–32, 2004.
- [9] J.W. Vlaeyen y S.J. Linton, "Fear-avoidance and its consequences in chronic musculoskeletal pain: a state of the art,." *Pain*, vol. 85, pp. 317–332, 2000.
- [10] G. Brattberg, "Do pain problems in young school children persist into early adulthood? A 13-year follow-up,." *Eur. J. Pain*, vol. 8, no. 3, pp. 187–99, 2004.
- [11] S. Haugland, B. Wold, J. Stevenson, L.E. Aaroe y B. Woynarowska, "Subjective health complaints in adolescence. A cross-national comparison of prevalence and dimensionality,." *Eur. J. Public Health*, vol. 11, pp. 4–10, 2001.
- [12] G. Tellnes, K.O. Svendsen, D. Bruusgaard y T. Bjerkedal, "Incidence of sickness certification. Proposal for use as a health status indicator,." *Scand. J. Prim. Health Care*, vol. 7, pp. 111–117, 1989.
- [13] C. Bouchard, S.N. Blair y W.L. Haskell, *Physical Activity and Health.*, 2 edición. Human Kinetics, 2012.
- [14] F.B. Ortega, J.R. Ruiz, M.J. Castillo y M. Sjöström, "Physical fitness in childhood and adolescence: A powerful marker of health,." *Int. J. Obes.*, vol. 32, no. 1, pp. 1–11, 2008.
- [15] A.C. Long, T.M. Palermo y A.M. Manees, "Brief Report: Using Actigraphy to Compare Physical Activity Levels in Adolescents with Chronic Pain and Healthy Adolescents,." *J. Pediatr Psychol*, vol. 33, no. 6, pp. 660–665, 2010.
- [16] A.C. Wilson, A.S. Lewandowski y T.S.M. Palermo, "Fear-avoidance beliefs and parental responses to pain in adolescents with chronic pain,." *Pain Res. Manag.*, vol. 16, no. 3, pp. 178–182, 2011.
- [17] M. Dolphens, S. Vansteelandt, B. Cagnie, A. Vleeming, J. Nijs, G. Vanderstraeten y L. Danneels, "Multivariable modeling of factors associated with spinal pain in young adolescence,." *Eur. Spine J.*, vol. 25, no. 9, pp. 2809–2821, 2016.
- [18] S.M. Myrtveit, B. Sivertsen, J.C. Skogen, L. Frosthalm, K.M. Stormark y M. Hysing, "Adolescent Neck and Shoulder Pain. The Association With Depression, Physical Activity, Screen-Based Activities, and Use of Health Care Services,." *J. Adolesc. Heal.*, vol. 55, no. 3, pp. 366–372, 2014.
- [19] Z. Shan, G. Deng, J. Li, Y. Li, Y. Zhang y Q. Zhao, "Correlational Analysis of neck / shoulder Pain and Low Back Pain with the Use of Digital Products , Physical Activity and Psychological Status among Adolescents in Shanghai,." *PLoS One*, vol. 8, no. 10, pp. 1–9, 2013.
- [20] S. Walter, "Lifestyle Behaviors and Illness-Related Factors as Predictors of Recurrent Headache in U.S. Adolescents,." *J. Neurosci. Nurses*, vol. 46, no. 6, 2014.
- [21] C.J. Riddoch, L.B. Andersen, N. Wedderkopp, M. Harro, L. Klasson-Heggebo y L.B. Sardinha, "Physical activity levels and patterns of 9- and 15-yr-old European children,." *Med. Sci. Sport. Exerc.*, vol. 36, no. 1, pp. 86–92, 2004.
- [22] F. Chacon, "Diferencias en la percepción del dolor entre hombres y mujeres. Papel de los estrógenos,." *Inf. Med.*, vol. 11, no. 6, pp. 355–356, 2009.
- [23] S.T. Tran, J.W. Guite, A. Pantaleao, M. Pfeiffer, G.D. Myer, S. Sil, S.T. Thomas, T.V. Ting, S.E. Williams, B. Edelheit, S. Ounpuu, J. Rodriguez-MacClintic, L. Zemel, W. Zempsky y S. Kashi-kar-Zuck, "Preliminary outcomes of a cross-site cognitive-behavioral and neuromuscular integrative training intervention for juvenile fibromyalgia,." *Arthritis Care Re-search*, vol. 69, no. 3, pp. 413–420, 2018.

- [24] R. Ramírez-Vélez, C. Silva-Moreno, J.E. Correa-Bautista, K. González-Ruiz, D.H. Prieto-Benavides, E. Villa-González, y A. García-Hermoso, "Self-rated health status and cardiorespiratory fitness in a sample of schoolchildren from Bogotá, Colombia. The FUPRECOL study," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 14, no. 9, pp. 1–14, 2017.
- [25] S. Sil, S. Thomas, C. DiCesare, D. Strotman, T.V. Ting, G. Myer y S. Kashikar-Zuck, "Preliminary evidence of altered biomechanics in adolescents with juvenile fibromyalgia," *Arthritis Care Res.*, vol. 67, no. 1, pp. 102–111, 2015.
- [26] N.C. Stommen, J.A. Verbunt, S.L. Gorter y M.E. Goossens, "Physical activity and disability among adolescents and young adults with non-specific musculoskeletal pain.," *Disabil. Rehabil.*, vol. 34, no. 17, pp. 1438–1443, 2012.
- [27] C. Padilla-Moledo, J.R. Ruiz, F.B. Ortega, J. Mora y J. Castro-Pinero, "Associations of muscular fitness with psychological positive health, health complaints, and health risk behaviors in Spanish children and adolescents.," *J. strength Cond. Res.*, vol. 26, no. 1, pp. 167–173, 2012.
- [28] J. Castro-Pinero, C. Padilla-Moledo, F.B. Ortega, D. Moliner-Urdiales, X. Keating, y J.R. Ruiz, "Cardiorespiratory Fitness and Fatness Are Associated With Health Complaints and Health Risk Behaviors in Youth.," *J. Phys. Activity Heal.*, vol. 9, pp. 642–649, 2012.
- [29] S. Kashikar-Zuck, S.R. Flowers, E. Verkamp, T.V. Ting, A.M. Lynch-Jordan, T.B. Graham, M. Passo, K.N. Schikler, P.J. Hashkes, S. Spalding, G. Banez, M.M. Richards, S.W. Powers, L.M. Arnold y D. Lovell, "Actigraphy-based physical activity monitoring in adolescents with Juvenile Primary Fibromyalgia Syndrome.," *J. Pain*, vol. 11, no. 9, pp. 885–893, 2011.
- [30] R.G. Astfalck, P.B. O'Sullivan, L.M. Strakery A.J. Smith, "A detailed characterisation of pain , disability , physical and psychological features of a small group of adolescents with non-specific chronic low back pain.," *Man. Ther.*, vol. 15, no. 3, pp. 240–247, 2010.
- [31] N. Fukumori, Y. Yamamoto, M. Takegami, S. Yamazaki, Y. Onishi, M. Sekiguchi, K. Otani, S. Konno, S. Kikuchi y S. Fukuhara, "Association between hand-grip strength and depressive symptoms: Locomotive Syndrome and Health Outcomes in Aizu Cohort Study (LOHAS).," *Age Ageing*, vol. 44, no. 4, pp. 592–598, 2015.
- [32] V. Segura-Jiménez, A. Soriano-Maldonado, F. Estévez-López, I.C. Álvarez-Gallardo, M. Delgado-Fernández, J.R. Ruiz y V.A. Aparicio, "Independent and joint associations of physical activity and fitness with fibromyalgia symptoms and severity: The al-Ándalus project.," *J. Sports Sci.*, vol. 35, no. 15, pp. 1565–1574, 2016.
- [33] D. Collado-Mateo, G. Chen, M.A. Garcia-Gordillo, A. Iezzi, J.C. Adsuar, P.R. Olivares y N. Gusi, "Fibromyalgia and quality of life: mapping the revised fibromyalgia impact questionnaire to the preference-based instruments.," *Health Qual. Life Outcomes*, vol. 15, no. 114, pp. 1–9, 2017.



Lucía Godino-Prior recibió el título de graduada en Ciencias de la Actividad

Física y del Deporte por la Universidad de Cádiz en 2018. Su labor investigadora incluye la colaboración en la elaboración y presentación en la II Jornadas de Innovación Docente Universitaria UCA del proyecto de aprendizaje autónomo y colaborativo UCAdanza.

El Yoduro de Plata y la Siembra de Nubes

Tamar Sola Ortigosa

Resumen—El desarrollo de las técnicas de manipulación climática en las últimas décadas ha propiciado la generalización de estas prácticas, en concreto la siembra de nubes, en multitud de regiones. Uno de los principales agentes químicos que se utilizan es el Yoduro de Plata, dada su efectividad. Tanto el Yoduro de Plata como el empleo en general de estas técnicas trae consigo una serie de problemas que habrá que intentar superar para potenciar las ventajas que pueden ofrecer.

Palabras Claves—Manipulación climática, Siembra de Nubes, Lluvia Artificial, Yoduro de Plata.

1. INTRODUCCIÓN

Avionetas que disipan las nubes, proyectiles que provocan la lluvia o evitan el granizo... A priori, parecen hipótesis sacadas de remotas teorías conspirativas o pura ciencia ficción. Pues bien, podríamos decir que la realidad ha superado a la ficción.

Desde tiempos remotos, el ser humano ha intentado dominar el cielo para adaptarlo a sus necesidades, quedando este propósito en meras intenciones con escasa o nula repercusión práctica. En los últimos años, principalmente desde el siglo pasado, se han venido desarrollando algunas técnicas que, por primera vez, parecen estar dando algunos frutos en esta imposible misión.

La modificación climática, como su propio nombre indica, consiste en una serie de técnicas, que ya se utilizan en más de cincuenta países, para alterar el clima intentando lograr determinados beneficios. Dentro de estas técnicas, encontramos la llamada "siembra de nubes" (*cloud seeding* en inglés) o "lluvia artificial", que es una práctica cuyo objetivo principal es el aumento de la precipitación. No obstante, como expondremos a continuación, la modificación climática no solo ha resultado útil en lo que al incremento de la lluvia se refiere, puesto que también se han intentado disminuir los daños colaterales que ocasionan otros fenómenos como el granizo o la niebla [1]

Para lograr modificar el clima, se utilizan diversos agentes químicos. El Yoduro de Plata o *silver iodide* en inglés, es uno de los compuestos cuyo uso está más extendido, por lo que le dedicaremos una parte de este trabajo.

2. YODURO DE PLATA Y SIEMBRA DE NUBES

El Yoduro de Plata es un compuesto inorgánico cuya fórmula química es AgI. Además de utilizarse en la siembra de nubes, también se emplea en el revelado de fotografías y como antiséptico [2].

Sin embargo, los primeros pasos relevantes en la siembra de nubes no consistieron en la utilización de Yoduro de Plata. El primer compuesto que arrojó resultados significativos en la modificación de las precipitaciones fue el CO₂ congelado, también conocido como "hielo seco", gracias a los ensayos de Schaeffer en 1946. El Yoduro de Plata fue

empleado para tal fin por primera vez a finales de la misma década, por Vonnegut [3].

Para entender el porqué de la utilización del Yoduro de Plata, debemos conocer el fundamento de las técnicas de siembra de nubes.

Los procesos por los que se lleva a cabo la modificación meteorológica, así como los agentes empleados, son múltiples y variados. La elección de uno u otro depende, en gran medida, de las características de la nube sobre la que se quiere incidir.

A grandes rasgos, podemos distinguir dos tipos de nubes: nubes frías y nubes cálidas, dependiendo de si la temperatura se encuentra por debajo (para las primeras) o por encima (para las segundas) de cero grados centígrados.

En el primer tipo, las gotículas o pequeñas gotas de agua se encuentran suspendidas en estado líquido. La precipitación se produciría cuando se acumulan dichas gotículas a través de la colisión o coalescencia, de tal forma que incrementan su tamaño y su peso, rompiendo la flotabilidad y precipitando. Por ello, para este tipo de nubes, los agentes que se emplean suelen ser materiales higroscópicos, esto es, que captan la humedad (como la sal) de manera que se facilite la condensación.

En el segundo tipo, las gotículas se encuentran sobreenfriadas (es decir, en estado líquido a pesar de que la temperatura es inferior a cero grados). La precipitación se produciría cuando se formasen cristales de hielo que, de nuevo, incrementasen su tamaño y peso al servirse de las gotículas sobreenfriadas y precipitasen. Por tanto, el objetivo aquí es lograr la nucleación de cristales de hielo suficientes para mejorar la eficiencia de la precipitación [4].

Es en este punto donde entra en juego el Yoduro de Plata. Es uno de los compuestos que mayor efectividad presenta al formar cristales muy similares a los cristales de hielo, con lo que interacciona con las pequeñas gotas de agua igual que lo haría un cristal de hielo [1].

Sin embargo, sobre la efectividad de aplicación práctica de estos conocimientos teóricos, no existe pleno consenso entre la comunidad científica. La mayor parte de la doctrina considera que el empleo de estas técnicas puede aumentar la precipitación en torno a un 10% o un 20% cuando se emplea correctamente el Yoduro de Plata [4]. Esta fue la premisa de la que partió uno de los tantos estudios que se han realizado para probar esta hipótesis. Este proyecto

(que comenzó en 1974 y terminó en 1989) analizó los resultados de las precipitaciones anuales tras haber empleado técnicas de siembra de nubes en distintos países. En concreto, uno de los ensayos tuvo lugar cerca de la ciudad de Valladolid. Este ensayo no logró demostrar la hipótesis de partida debido, en gran parte, a la dificultad de comprender el propio fenómeno de la formación de las nubes y a la multitud de factores que intervienen [5].

Otros estudios sí han obtenido resultados significativos de incremento de las precipitaciones. Pero también el empleo de estas técnicas ha conseguido reducir significativamente las precipitaciones, en lugar de mejorar su eficiencia. La posible explicación de este efecto opuesto se encuentra, de nuevo, en la amplia variabilidad de los tipos de nubes y los múltiples factores que influyen [6].

3. PROBLEMAS Y VENTAJAS DEL YODURO DE PLATA Y LA SIEMBRA DE NUBES

3.1. Toxicidad del Yoduro de Plata

En primer lugar, uno de los problemas más relevantes que acompaña a la siembra de nubes basada en el Yoduro de Plata es la toxicidad de este compuesto. Es cierto que el Yoduro de plata es insoluble en agua, lo que hace que se acumule en forma sólida y no cause graves problemas de toxicidad para el ecosistema o para el ser humano. También es cierto que las cantidades de Yoduro de Plata que se emplean para mejorar la precipitación de una nube son ínfimas, lo que reduce aún más el riesgo de toxicidad [7].

No obstante, algunos estudios han evaluado los efectos nocivos que tendría para el ecosistema la reiteración en el tiempo y en una determinada región la siembra de nubes utilizando este compuesto. La exposición continuada al Yoduro de Plata se ha evaluado tanto en el medio acuático como en el terrestre. Las conclusiones obtenidas señalan que, efectivamente, a partir del cúmulo de determinadas concentraciones de Yoduro de Plata, las formas de vida más sencilla de los ecosistemas terrestres y acuáticos pueden verse afectadas [8].

Desde la perspectiva de la Asociación para la Modificación del Tiempo (WMA, por sus siglas en inglés *Weather Modification Association*) estos estudios se basan en ensayos en laboratorio que no tienen en cuenta la renovación que se produciría en el medioambiente. Por ello, la WMA concluye que el empleo de Yoduro de Plata carece de efectos perjudiciales para la salud o el medioambiente [9].

Sin embargo, aunque no se reproduzcan de manera idéntica las condiciones medioambientales en un laboratorio, no debemos olvidar que, igualmente, se estaría produciendo de manera repetida un vertido de una sustancia que ha demostrado influir negativamente en determinadas formas de vida.

3.2. Impacto Medioambiental

Otro efecto que debe valorarse es cómo puede verse afectada la biodiversidad de una determinada zona geográfica sometida a esta manipulación climática, no tanto por los posibles efectos nocivos de los agentes empleados, sino por la alteración cuantitativa de las precipitaciones. En este

punto también existe divergencia de opiniones. Por un lado, un sector considera que el porcentaje de incremento o descenso de las precipitaciones a causa de la manipulación climática oscila dentro de los límites de la normalidad, con lo que no afectaría al ecosistema. No obstante, otro sector destaca el hecho de que la alteración de las precipitaciones, aunque no sea drástica, altera también el ritmo biológico de algunas especies, especialmente de las formas de vida más sencillas, provocando un efecto en cadena que se extiende hasta formas de vida más complejas [1].

3.3. Conflictos Sociales, Económicos y Políticos

El empleo de estas técnicas también ha sido fuente de importantes polémicas. A menudo, derivan de los efectos inesperados que empeoran las condiciones meteorológicas. Como ya hemos expuesto, estas técnicas aún no están completamente depuradas y el conocimiento científico aún no es exhaustivo, por lo que la producción de daños colaterales es altamente probable.

En este sentido, destacamos uno de los conflictos más recientes que tiene como protagonista al Yoduro de Plata. Los agricultores de la Andalucía oriental alzaron la voz contra una serie de avionetas “rompenubes” que disipaban las nubes tras su paso. Según el periódico en el que se publica la noticia, detrás de esta manipulación climática podrían subyacer los intereses de empresas de energía solar o de grandes explotaciones agrícolas [10].

Además, no faltan las voces que señalan la posibilidad de que surjan conflictos entre regiones, al poder suponer un aprovechamiento de los recursos climáticos de una región en detrimento de las colindantes o trasladar esos efectos no deseados [11]. La manipulación climática podría llegar incluso al extremo de convertirse en un arma en situaciones de conflicto bélico entre países, por lo que numerosos tratados internacionales ya excluyen el empleo de estas técnicas en dichas situaciones [12].

3.4. Ventajas de la Manipulación Climática

Una vez expuestos algunos de los problemas que se derivan de esta práctica, es inevitable preguntarnos porqué se siguen empleando estas técnicas en más de cincuenta países a lo largo del mundo.

La manipulación climática y en concreto, la siembra de nubes, busca, en última instancia, obtener beneficios económicos. Bien sea incrementando las precipitaciones en zonas áridas, evitando el granizo o minimizando los efectos de huracanes devastadores, siempre subyace un interés económico que promueve el desarrollo de estas técnicas [1].

Pero también, aparte de este interés económico, la manipulación climática ha perseguido otro tipo de fines más loables, como salvar vidas humanas (especialmente en el control de huracanes y fenómenos adversos) o incluso contrarrestar el manido efecto invernadero. Esta última e innovadora vertiente de la manipulación climática a través de la siembra de nubes, pretende reducir el efecto invernadero al aumentar la presencia de las nubes marítimas de tal forma que actúen como una barrera para reflejar la radiación solar, aumentando así el porcentaje de albedo [13]. Esta finalidad de la siembra de nubes entraría dentro del

concepto de geoingeniería climática, esto es, un conjunto de métodos de diversa índole que actúan sobre las condiciones meteorológicas con el fin de paliar el calentamiento global [14].

4. CONCLUSIONES

Tras este acercamiento al concepto de modificación climática y en concreto, a la siembra de nubes a través del Yoduro de Plata, ha quedado de manifiesto que, en esta materia, es necesario seguir investigando y desarrollando proyectos que permitan conocer con mayor exactitud el funcionamiento y repercusión de estas técnicas. Solo con dicho conocimiento, podrán potenciarse los resultados positivos que ya se han observado y podrán superarse los problemas que actualmente se plantean. Por un lado, no solo se conseguirá depurar las técnicas en orden a incrementar la eficiencia, sino que un mayor conocimiento podrá conllevar un mayor control tanto formal, por parte de organismos gubernamentales y supraestatales; como social. Asimismo, consideramos necesario acercar la información científica disponible sobre estas prácticas a la sociedad en general, pues solo así será posible que ese control sea ejercido con objetividad y buen juicio.

REFERENCIAS

- [1] A.S. Dennis, *Weather Modification by Cloud Seeding*, Rapid City, South Dakota: Academic Press, pp. 106-107,162-223,236-238, 1980.
- [2] Wikipedia. Yoduro de Plata. https://es.wikipedia.org/wiki/Yoduro_de_plata
- [3] Blog de la AEMET. <https://aemetblog.es/2016/09/30/aemet-al-margen-de-las-llamadas-avionetas-anti-lluvias/>
- [4] Web del Central Wheather Bureau. <http://www.cwb.gov.tw/V7e/knowledge/encyclopedia/me031.htm>
- [5] R. List, "The Precipitation Enhancement Project of The World Metereological Organization. Program and Progress", *University of Toroto*, Canadá, p. 4.
- [6] J-P. Chalou and M. Gillet, "Las nubes", unpublished, pp. 11-13
- [7] R.B. Standler and B. Vonnegut, "Estimated Possible Effects of AgI Cloud Seeding on Human Being" *Journal of Applied Meteorology*, vol. 11, pp. 1388-1391, Jun/Aug 1972.
- [8] C. Fajardo, G.Costa, L.T.Ortiz, et al., "Potential risk of acute toxicity induced by AgI cloud seeding on soil and freshwater biota" *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 133, pp. 433-441, May/Jun 2016.
- [9] "Weather Modification Association (WMA) Position Statement on the Environmental Impact of using Silver Iodide as a Cloud Seeding Agent", July 2009.
- [10] R. Ramos (7 de abril de 2016), "¿Quién está disolviendo las nubes en Andalucía?", *El Mundo*, Recuperado de <http://www.el-mundo.es/andalucia/2016/04/07/570697b7e2704ecb778b45fc.html>
- [11] L. M.P Muñoz, "Sembrando el cambio en la modificación artificial del tiempo a nivel mundial", *Bulletin de la Organización Meteorológica Mundial*, vol. 66, no. 1, 2017.
- [12] J. Garriga, (10 de diciembre de 2009) "Manipular la lluvia no es

la solución", *El País*, Recuperado de https://elpais.com/diario/2009/12/10/sociedad/1260399601_850215.html

- [13] P.J. Rasch, J. Latham and C.C. Chen, "Geoengineering by cloud seeding: influence on sea ice and climate system" *Environmental Research Letters*, vol. 4, Aug/Dec 2009, doi: 10.1088/1748-9326/4/4/045112
- [14] J. Brotons, "Geoingeniería y modificación del clima", *El Ecolista*, no. 85, 2015.

Tamar Sola Ortigosa. Estudiante del Doble Grado en Derecho y Criminología por la Universidad Pablo de Olavide en Sevilla.



Para ti es un pinchazo, para ellos la vida – Trasplante de médula ósea

Ana Belén Herrera Campos, Laura Zarzuela Moncada

Resumen— El trasplante de médula ósea es un procedimiento que se lleva a cabo para tratar diversas enfermedades como el cáncer. El sistema inmunitario es de especial relevancia pues es el encargado de proteger al cuerpo frente a lo extraño, por lo que podría considerarlo como tal. Es aquí donde toma mayor importancia la compatibilidad HLA, para que el proceso pueda llevarse a cabo.

Palabras Claves— Trasplante, Médula ósea, BMT, HLA, Histocompatibilidad, Donar, Células madre.

1. INTRODUCCIÓN

¡Regala vida! ¿Cómo podemos poner nuestro granito de arena? Es tan sencillo como hacerte donante, ya sea de médula, sangre u órganos.

En concreto, en este artículo nos centraremos en el trasplante de médula ósea (BMT, del inglés *Bone Marrow Transplantation*), el cual es requerido por pacientes con trastornos hematológicos tales como la leucemia, linfomas, talasemia, o inmunodeficiencias, entre otras.

La médula ósea es un tejido esponjoso y blando que se encuentra en el interior de los huesos, lugar donde se producen millones de células sanguíneas diariamente.

Con el BMT se pretende suplir al paciente de precursores hematopoyéticos sanos, los cuales a partir de las células madre generen todos los tipos de células sanguíneas de la médula ósea tras un proceso de diferenciación. Con ello, se consigue sustituir una médula ósea enferma.

Sin embargo, es de vital importancia la histocompatibilidad entre el donante y el receptor, la cual determina que el proceso se pueda llevar a cabo. Es por ello que tan solo entre un 25 y un 30% de los pacientes tienen probabilidad de encontrar un donante familiar compatible [1], por lo que he aquí un indicio de la importancia sobre la concienciación general de ser donantes de médula ósea.

2. EL SISTEMA INMUNOLÓGICO Y LA MÉDULA ÓSEA

El sistema inmune hace referencia a un conjunto de células, componentes químicos y procesos cuya función es proteger la piel, el tracto intestinal, conductos respiratorios y otras regiones de diferentes antígenos. Más allá de las barreras estructurales y químicas, que nos protegen de infecciones, el sistema inmune puede ser visto como “dos líneas de defensa”: inmunidad innata e inmunidad adaptativa. La inmunidad innata representa la primera línea de defensa, no es específica y carece de memoria; mientras que la inmunidad adaptativa se desarrolla posteriormente, es específica y posee memoria, lo cual dará una respuesta más rápida y eficiente una vez se conoce al

antígeno. Ambas respuestas son complementarias [2].

Dentro de la inmunidad innata podemos distinguir cuatro tipos de barreras defensivas: anatómicas (piel y membranas mucosas), fisiológicas (temperatura, pH bajo y mediadores químicos), endocíticos y fagocíticos, e inflamatorias. Entre sus componentes encontramos el sistema complemento y diversas células como fagocitos (macrófagos y neutrófilos), eosinófilos, basófilos o monocitos [2].

En cuanto a la inmunidad adaptativa, conlleva el reconocimiento de antígenos extraños, la generación de una respuesta específica contra un determinado patógeno, y el desarrollo de la memoria inmunológica contra él. Dentro de esta inmunidad encontramos las células T antígeno específicas, que se activan y proliferan mediante la acción de APCs, y las células B que se diferencian en células plasmáticas para producir anticuerpos. Los linfocitos T y B surgen a partir de células madres hematopoyéticas de la médula ósea [2].

La médula ósea se encuentra en el interior de los huesos, y aquí se producen las células circulantes de la sangre, por un proceso denominado hematopoyesis. Aquella que se encuentra en esta etapa tiene un color rojizo, dada la presencia de glóbulos rojos, cuando este proceso no está teniendo lugar, se observa un color amarillo. Durante el desarrollo de las células sanguíneas, los precursores hematopoyéticos viajan desde la región subendosteal hacia el centro. En este proceso, las células troncales hematopoyéticas (HSC) están en división, permaneciendo una de las células hijas en la médula ósea, y la otra continuará con el desarrollo y migrará hacia otros lugares [3]. Así se forman todas las células de la sangre: glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) o plaquetas (trombocitos) maduros [4]. Véase Figura 1.

Los glóbulos blancos son las células encargadas de defender al organismo frente a infecciones, existen cinco tipos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y linfocitos) y cada uno tiene funciones específicas. Siendo los linfocitos los más importantes del sistema inmunitario, detectan y eliminan productos ajenos a éste. Encontramos en este grupo a los linfocitos T y linfocitos B, los primeros reconocen los antígenos que no son propios de nuestro cuerpo y los destruyen, mientras que los segundos pro-

ducen anticuerpos capaces de reconocer antígenos extraños [5].

Los glóbulos rojos transportan oxígeno de los pulmones a tejidos y el dióxido de carbono de los tejidos a los pulmones que serán eliminados gracias a la respiración.

Las plaquetas previenen y controlan las hemorragias producidas tras lesiones en los vasos sanguíneos [5].

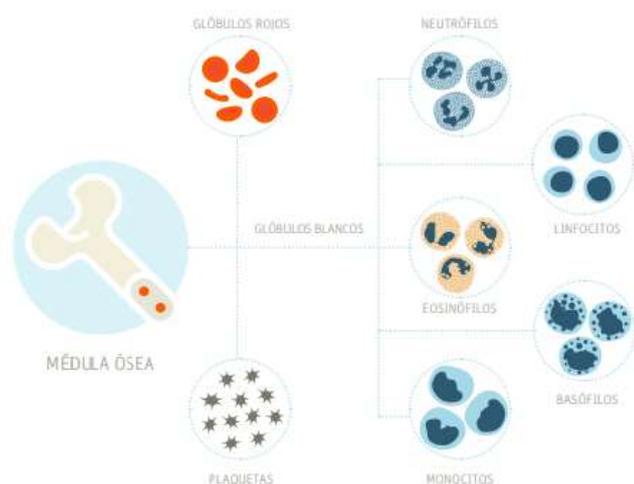


Fig 1. Células sanguíneas generadas a partir de células madre

Además, en este contexto es importante resaltar el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), que engloba un conjunto de genes que codifican moléculas conocidas como antígenos de histocompatibilidad (HLA) y se expresan en la superficie de las células del sistema inmune, e intervienen en el proceso de presentación de antígenos a linfocitos T. La principal característica de estos genes es su elevado polimorfismo [6].

3. PROCEDIMIENTO DEL TRASPLANTE

Existen diferentes tipos de trasplantes, en función del donante, entre los que nos encontramos los autólogos, los cuales son aquellos que usan los precursores hematopoyéticos extraídos de la médula ósea o por aféresis del mismo paciente que va a recibir el trasplante. En estos casos, gracias a diversas técnicas se pueden seleccionar las células sanas las cuales, a posteriori serán las que se transfieran [7].

Sin embargo, existe otro tipo de trasplante, el alogénico, en el que los precursores provienen de un donante externo, siempre que exista compatibilidad HLA [7].

3.1. Preparación del donante

Tras la notificación de coincidencia con un paciente que requiere un BMT, el donante será sometido a pruebas adicionales para corroborar la compatibilidad con este. Es de gran relevancia, pues el sistema inmunológico es la herramienta que usa el cuerpo humano para reconocer lo extraño, de forma que ataca a todo aquello que pudiera ser dañino. Por ello, ha de haber compatibilidad, es decir, una coincidencia en HLA, de manera que cuantos más antígenos coincidan, menos riesgo de rechazo tendrá el proceso [5].

3.2. Recolección de células madre

En este contexto podemos encontrar células madres provenientes de la médula ósea, las cuales se obtienen mediante punciones en el centro blando de las crestas ilíacas posteriores (huesos de la parte posterosuperior de la cadera) con anestesia general.

Además, también se puede obtener a partir de la sangre periférica, por medio de un proceso conocido como aféresis. Dado que las células madres no abundan la sangre de venas y arterias, con el fármaco G-CSF (del inglés *Granulocyte colony-stimulating factor*) se consigue una movilización masiva de estas células a la sangre periférica. Gracias a ello, una técnica permite la recolección de las células de interés, y la devolución de la sangre y plasma restante al donante en cuestión [5].

3.3. Preparación del receptor

Dado el alto riesgo de infecciones o complicaciones los pacientes son tratados tomando severas medidas de aislamiento.

Tras la colocación de un catéter venoso central, se procede al acondicionamiento, el cual trata de eliminar las células enfermas, dejar espacio para el injerto y evitar el rechazo.

- Acondicionamiento mieloblático. La alta intensidad empleada destruye las células madres del paciente de forma que requiere de la administración de células madres de un donante para la recuperación de la función medular de manera que se pretende eliminar la enfermedad así como un efecto inmunosupresor. Para ello, se hace uso de agentes quimioterapéuticos tales como la ciclofosfamida o busulfán, pudiendo estar asociados a la radioterapia [5].
- Acondicionamiento no mieloblático. Se trata de un enfoque no tan agresivo, donde se administran agentes inmunosupresores pero donde la función medular no se destruye. Cabe decir que corren menor riesgo de infecciones y mortandad [5].

3.4. Administración de células madre

Es en el denominado día 0 cuando se procede a la infusión o trasplante de células madre propiamente dicho, a modo similar a una transfusión sanguínea [7].

3.5. Prendimiento

Tras el trasplante, las células madres se dirigen a la médula, donde comienzan a reconstruir el tejido hematopoyético del paciente, dando lugar a nuevas células sanguíneas.

De forma general, esto tiene lugar entre el día +15 y el +30. Para corroborarlo, se hacen hemogramas, viendo cómo el número de leucocitos y plaquetas va aumentando paulatinamente con los días [7].

3.6. Posibles efectos secundarios o complicaciones

Efectos comunes como consecuencia del acondicionamiento pueden ser náuseas y vómitos, mucositis oral, diarrea o caída del cabello (alopecia) así como insuficiencia medular, lo cual hace al paciente más propenso a pa-

decer infecciones o anemia.

Como consecuencia del trasplante principalmente alogénico se puede dar una complicación, EICR (*Enfermedad Injerto Contra Receptor*) [8]. Es producida por los linfocitos T del donante, los cuales tienen capacidad de producir una respuesta inmunológica ante cualquier elemento extraño, reconociendo al organismo receptor como tal. Cabe decir que puede llegar a producirse a pesar de que donador-receptor sean totalmente compatibles dado que siempre existirán diferencias, a no ser que se trate de gemelos univitelinos.

Para prevenir dicha complicación se eliminan los linfocitos T del donante, o bien se emplean fármacos inmunodepresores, tales como la ciclosporina o metotrexato [5].

4. EN LA ACTUALIDAD

4.1. Super Cataleya

Cataleya es una bebé de 11 meses que posee un tipo de leucemia letal conocida como mieloide aguda, la cual afecta a las edades más tempranas. La pequeña ha estado sometida a cinco meses de quimioterapia, y posteriormente en el mes de Septiembre de 2018 iba a operarse gracias a la aparición de un donante. Sin embargo, cuando todo estaba listo, el donante dejó de estar disponible hasta diciembre de este mismo año, demasiado tiempo para la pequeña. Tras esta noticia, los padres lanzaron una campaña en busca de donantes. Además, se diagnosticó quién de ellos era más compatible con la niña para la realización del trasplante, siendo el padre, ya que presentaba una compatibilidad de células del 50%. Finalmente, pudo someterse al BMT, a pesar de los riesgos existentes [9].

4.2. Salva vidas y merece la pena

Marcos Rosa era un joven onubense a quien la leucemia le atacó hasta en tres ocasiones. La primera vez tenía 17 años, y la segunda 22, superó ambas con quimioterapia y radioterapia. Años más tarde, con 26 años, esta enfermedad volvió a atacarle de nuevo, y en este caso requeriría un trasplante de médula. Lanzó entonces una campaña para buscar donantes, consiguiendo un aumento en Huelva del número de estos. El día de su 27 cumpleaños encontró un donante, procedente de Alemania, y que presentaba un 90% de compatibilidad. Todo parecía haber sido un éxito, pero posteriormente surgieron complicaciones, siendo el trasplante rechazado y provocando la muerte del joven en el mes de agosto de 2018. El joven dejó un mensaje para recordar la necesidad de seguir adelante en esta lucha "no es doloroso como la gente piensa, salva vidas y merece la pena"[10].

4.3. Lucha contra el VIH

En los últimos tiempos se ha estado trabajando en la erradicación del VIH gracias al trasplante de sangre. Esto ha consistido en destruir mediante quimioterapia las células sanguíneas del paciente. En dichas células se encuentran las CCR5, que son utilizadas por el VIH para entrar en los linfocitos e infectarlos. Existen personas que presentan

una mutación en el gen que codifica esta proteína confiriendo una protección natural contra el virus ya que no presentan esta proteína y por tanto el virus no podría entrar, es por ello que se realiza el trasplante con células que provienen de pacientes con esta mutación consiguiendo que se repoble la sangre con ellas [11].

Este caso fue "El Paciente de Berlín", Timothy Brown, que recibió un trasplante de médula ósea que tenía dicha mutación en 2008. Actualmente está curado de leucemia y se considera la única persona del mundo que se ha curado de la infección por el VIH [12].

5. CONCLUSIONES

Este estudio muestra la relevancia del trasplante de médula ósea en cuanto a salvar vidas se refiere, ya sea de pacientes que padecen una enfermedad u otra. Todo ello no sería posible sin la cada vez más desarrollada investigación que se lleva a cabo en todos los campos, conocimientos que convergen para dar lugar a terapias tan prometedoras como esta.

Asimismo, se pretende que con los años la concienciación general sea mayor en este aspecto, de forma que sea el altruismo quien reine en cada persona, y por tanto, que todo paciente, pueda mejorar su calidad de vida y llegar a salvarla, pues no tendría problemas a la hora de encontrar una médula compatible. Es por ello que, cada aportación es sumamente significativa.

6. REFERENCIAS

- [1] Web del American Society of Clinical Oncology (ASCO) <https://www.cancer.net/es/blog/2017-02/la-donaci%C3%B3n-de-m%C3%A9dula-%C3%B3sea-es-f%C3%A1cil-e-importante-he-aqu%C3%AD-el-motivo>
- [2] Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma Clin Immunol.* 2018;14(s2):1-10. doi:10.1186/s13223-018-0278-1
- [3] Mclamon A. Bone Marrow. 2006;6(2).
- [4] Formación de las células sanguíneas (glóbulos sanguíneos) | Manuales MSD | Available at : <https://www.msmanuals.com/es-es/hogar/trastornos-de-la-sangre/biolog%C3%ADa-de-la-sangre/formaci%C3%B3n-de-las-c%C3%A9lulas-sangu%C3%ADneas-gl%C3%B3bulos-sangu%C3%ADneas>
- [5] Dr. Enric Carreras, *Guía del trasplante de médula ósea para el paciente*. Fundación Josep Carreras Contra la Leucemia, pp. 14-28, 2016.
- [6] López-martínez A, Chávez-muñoz C, Granados J, Mhc NDEL. Función biológica del complejo principal de histocompatibilidad. 2005;57(2):132-141.
- [7] Web de Stanford Children's Health. <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=transplantedemdulasea-90-P06155> (Enlace web)
- [8] Web del National Cancer Research Institute. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/ttrasplante-de-celulas-madre/hoja-informativa-medula-osea-trasplante?redirect=true>
- [9] Una bebé que necesitaba un trasplante de médula logra recibir-

lo de su padre. | 20 minutos | Available at :
<https://www.20minutos.es/noticia/3451060/0/bebe-trasplante-medula-padre-cataleya/>

[10] Muere a los 27 años Marcos Rosa tras no poder ganar la batalla a la leucemia | Huelva Información | Available at :
https://www.huelvainformacion.es/huelva/Muere-Marcos-Rosa-batalla-leucemia_0_1274872875.html

[11] Primer paciente 'curado' del VIH por un trasplante de sangre de cordón umbilical | El Mundo | Available at :
<http://www.elmundo.es/salud/2014/11/06/545b4b46e2704ee66d8b4570.html>

[12] Premian a un médico del Hospital Virgen de las Nieves por un trabajo sobre trasplante de médula ósea en personas con VIH | Europa Press | Available at:
<http://www.europapress.es/esandalucia/granada/noticia-premian-medico-hospital-virgen-nieves-trabajo-trasplante-medula-osea-personas-vih-20180321173852.html>



Ana Belén Herrera Campos y **Laura Zarzuela Moncada**. Actualmente son estudiantes de 4º curso de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

Sedimentation Speed of Suspended Blood Cells

Kellie Stellmach

Summary—This article discusses an example of a colloidal suspension (blood in plasma) to compare the speed of sedimentation using only gravity to when a centrifugal force is applied.

Key Words — Buoyancy, Colloid, Drag, Fragmentation, Sedimentation.

1. INTRODUCTION

Many people believe that objects fall with a constant acceleration. This is only true for objects inside a vacuum. When an object falls through a media (such as air or water), the media exerts a frictional force (also known as drag force) on the object. As the velocity of the falling object increases, so does the magnitude of the drag force, until it equals the magnitude of the gravitational force on the object. At this point, the drag force and gravitational force are balanced, so there is no net force on the object. According to Newton's famous equation ($F = ma$), if there is no net force on an object, there is no acceleration. Thus, once the drag force is equal in magnitude to the gravitational force on an object in free-fall, the object falls at a constant speed. This speed is known as the terminal velocity.

One interesting application of the concept of terminal velocity is the separation of colloidal suspensions. A colloidal suspension is a homogenous dispersion of colloids (nanoparticles) in a liquid. It can be considered an intermediate between a solution (such as dissolved sugar in water) and a suspension (such as chalk in water) [1]. For many colloidal suspensions, the colloids will eventually settle to the bottom of the container, given enough time. When the colloids fall, they do so at terminal velocity. In this context, it is common to refer to this speed as the sedimentation speed.

A well-known example of a colloidal suspension is blood, which is a suspension of solid blood cells in plasma. Many biological tests require the separation of blood cells from the plasma. This separation will occur naturally due to the force of gravity if a blood sample is left to settle in a vial. However, it is much faster to use a process known as blood fractionation, in which a centrifugal force is applied to speed up the sedimentation process [2].

But how much time does blood fractionation save? Is the extra effort worth it? Luckily, the calculations to determine this are relatively straight-forward.

2. WHAT FORCES ACT ON A SUSPENDED BLOOD CELL?

To determine the sedimentation speed of blood based on gravity alone, we must first look at the forces acting on the suspended cells. Consider a single blood cell. The three forces acting on this cell are gravity (F_G), drag (F_D) and buoyancy (F_B). Figure 1 is a free body diagram that shows the direction of these three forces acting on a blood cell.

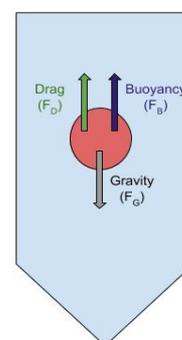


Fig. 1. Forces acting on a suspended blood cell

Since the blood cell falls at its sedimentation speed, it can be said that the force of gravity is exactly equal to and opposite the combined forces of drag and buoyancy.

$$F_G = F_D + F_B. \quad (1)$$

We can make this equation more specific by substituting equations for each of these forces. We know that the force of gravity is equal to the mass of the blood cell (m_{cell}) times the acceleration due to gravity (g , which is 9.81 m/s^2). We also know the drag force is equal to the drag force coefficient of the blood cell (f) times the sedimentation speed (v_s). Lastly, according to Archimede's principle, the force of buoyancy is equal to the mass of plasma displaced by the red blood cell (m_{plasma}) times the acceleration due to gravity.

$$m_{cell}g = f v_s + m_{plasma}g. \quad (2)$$

We can then use the fact that mass is equal to density times volume to obtain the following:

$$\rho_{cell} V_{cell}g = f v_s + \rho_{plasma} V_{plasma}g. \quad (3)$$

This equation then can be rearranged to solve explicitly for the sedimentation speed.

$$v_s = \frac{(\rho_{cell} V_{cell} - \rho_{plasma} V_{plasma})g}{f}. \quad (4)$$

Finally, we can use the fact that the volume of plasma displaced by the blood cell is equal to the volume of the blood cell.

$$v_s = \frac{(\rho_{cell} - \rho_{plasma}) V_{cell} g}{f}. \quad (5)$$

3. DETERMINING THE DRAG FORCE COEFFICIENT

The only variable in equation 5 left to be clarified is f , which is the drag force coefficient. If the blood cell is approximated to be spherical, we can use the drag force coefficient for a spherical particle, $f = 6\pi\eta R$, where η is the viscosity of the liquid and R is the radius of the blood cell.

$$v_s = \frac{(\rho_{cell} - \rho_{plasma}) V_{cell} g}{6\pi\eta R}. \quad (6)$$

4. SEDIMENTATION SPEED WITH ONLY GRAVITY

The first step in calculating the sedimentation speed is to calculate the volume of the blood cell. Assuming the cell is spherical, its volume can be calculated using the equation for the volume of a sphere ($V = 4/3\pi R^3$). Normal red blood cells have a diameter of 6 - 8 μm [3], so here we will assume the radius of a blood cell to be 4 μm (which is equal to 4×10^{-4} cm and 4×10^{-6} m).

$$V_{cell} = \frac{4}{3}\pi (4 \times 10^{-4}\text{cm})^3 = 2.68 \times 10^{-10}\text{mL}.$$

At this point, the sedimentation speed can be calculated by entering in values to equation 6. The density of red blood cells is known to be 1.125 g/mL, while that of plasma is 1.025 g/mL [4]. Since these densities are close in value, it is important to account for the force of buoyancy. (However, in general, if the density of the solid object is much larger than the density of the liquid, the force of buoyancy can be ignored.) Also, we can assume here that plasma has the

same viscosity as water at 25 °C (0.1 g/ms). When these values are entered, the following result is obtained.

$$v_s = \frac{(1.125 \frac{\text{g}}{\text{mL}} - 1.025 \frac{\text{g}}{\text{mL}})(2.68 \times 10^{-10}\text{mL})(9.81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2})}{6\pi(0.1 \frac{\text{g}}{\text{ms}})(4 \times 10^{-6}\text{m})}$$

$$v_s = 3.49 \times 10^{-5} \frac{\text{m}}{\text{s}}.$$

If we assume the test tube is 100 mm long (0.1 m), we can approximate how long it would take the blood to separate from the plasma by gravity alone.

$$\text{Time} = \frac{\text{distance}}{\text{speed}} = \frac{0.1 \text{ m}}{3.49 \times 10^{-5} \frac{\text{m}}{\text{s}}} \approx 2,870 \text{ s} \approx 48 \text{ minutes}.$$

5. SEDIMENTATION SPEED WITH CENTRIFUGAL FORCE

The process of sedimentation can be quickened by applying a centrifugal force. Suppose a centrifugal force of 10,000 G is applied. This means that the acceleration due to gravity is multiplied by a factor of 10,000. As a result, the new sedimentation speed is also multiplied by 10,000, becoming $v_s = 0.349$ m/s. Thus, the new time for the sedimentation of blood is the following.

$$\text{Time} = \frac{\text{distance}}{\text{speed}} = \frac{0.1 \text{ m}}{0.349 \frac{\text{m}}{\text{s}}} = 0.287 \text{ s}.$$

5. CONCLUSIONS

By applying a centrifugal force to a sample of blood, the separation of cells from plasma can be achieved in a matter of seconds instead of nearly an hour. This allows for faster blood test results, which is not only convenient, but often critical in many medical emergencies.

Another example of a colloidal suspension whose separation can be quickened by the application of a centrifugal force is milk. In fresh milk, a layer of cream (of lower density) will form at the top of the jar, while the milk (of higher density) sinks to the bottom. Thus, a similar calculation could be carried out to determine how long it would take for this separation to occur both with gravity alone and with an applied centrifugal force.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to thank Juan Antonio Anta and Renee Hanson for their help in editing this journal entry.

REFERENCES

- [1] Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/LibreTexts/University_of_Kentucky/UK%3A_CHE_103_-_Chemistry_for_Aligned_Health_\(Soult\)/Chapters/Chapter_7%3A_Solids%2C_Liquids%2C_and_Gases/7.6%3A_Colloids_and_Suspensions](https://chem.libretexts.org/LibreTexts/University_of_Kentucky/UK%3A_CHE_103_-_Chemistry_for_Aligned_Health_(Soult)/Chapters/Chapter_7%3A_Solids%2C_Liquids%2C_and_Gases/7.6%3A_Colloids_and_Suspensions)
- [2] Rice University. Fractionation of mammalian blood. <https://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/studies/sds->

[page/gellab1.html](#)

[3] LabCE.

https://www.labce.com/spg579126_red_blood_cell_rbc_size_variation.aspx

[4] The Physics Factbook.

<https://hypertextbook.com/facts/2004/MichaelShmukler.shtml>.



Kellie Stellmach is a junior studying chemistry and physics at Macalester College, in Saint Paul, Minnesota in the United States. She is studying in Sevilla during the fall of 2018, taking classes at Universidad de Pablo Olavide and Universidad de Sevilla. At Macalester College, she has worked as a teaching assistant for courses in General Chemistry and Analytical Chemistry. She has also worked for two

years in Professor Dennis Cao's organic materials research lab synthesizing novel aromatic multiimides.

NANOGELES Y SUS APLICACIONES BIOMÉDICAS

Alejandra Suárez Carrillo

Resumen— El desarrollo de nanomateriales y su aplicación a la biomedicina se han visto impulsados en las últimas dos décadas gracias a los distintos avances tecnológicos y clínicos. Los hidrogeles sintetizados en la escala nanométrica, denominados comúnmente nanogeles, han sido especialmente explotados en biomedicina debido a sus beneficiosas propiedades. No obstante, su utilización conlleva también una serie de limitaciones. Esta revisión ofrece un breve pero amplio recorrido por las diversas aplicaciones clínicas en las que se han empleado los nanogeles, así como los inconvenientes que han ido surgiendo a lo largo de su utilización, abarcando tanto la vectorización de distintos agentes a zonas localizadas como su empleo en el desarrollo de técnicas de análisis de imagen y detección.

Palabras Claves— Hidrogeles, Nanogeles, Nanotecnología, Vectorización.

1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de la nanotecnología al campo de la biomedicina continúa fortaleciéndose conforme avanzan los conocimientos en ambos sectores. Los nanomateriales, materiales sintetizados y/o llevados a la escala nanométrica (20-250 nm), exhiben una alta relación superficie/volumen y, además, pueden presentar propiedades que resultan muy útiles y que no poseen sus análogos macroscópicos.

El concepto de nanogel se atribuye a un hidrogel de dimensiones nanométricas, capaz de absorber una cantidad de agua varios cientos de veces mayor a su peso [1], y formado por una red de polímeros reticulados¹ [2-5]. Estos polímeros pueden ser de origen tanto natural como sintético, sin embargo, los naturales se considera, en ocasiones, más biocompatibles [4].

En cuanto a su clasificación, es posible agruparlos según el tipo de material, natural o sintético, con el que se han preparado (tabla 1). Otra clasificación hace referencia al tipo de enlace que conforma la red tridimensional, según el cual pueden dividirse en hidrogeles reticulados física o químicamente. Los nanogeles reticulados físicamente se consideran reversibles [6] ya que pueden revertir su estructura 3D a una disolución de polímeros. En este caso, los enlaces que unen estos polímeros comprenden puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas o interacciones hidrófobas [2]. Por otra parte, los polímeros que conforman los nanogeles químicamente reticulados están unidos por enlaces covalentes [6], lo que confiere una mayor estabilidad a esta nanoestructura. Otra de las formas de clasificación es según el tipo de grupos funcionales que alberguen, ya sean catiónicos, aniónicos, no iónicos o anfotéricos [7]. También es posible clasificarlos según su capacidad de respuesta a un estímulo determinado [6]. Los hidrogeles estímulo-sensibles tienen el potencial de activar una respuesta de modificación morfológica ante distintas señales externas tales como temperatura, pH, campo eléctrico [2], o fuerza iónica [5].

¹ Reticulación: reacción química que cataliza la formación de cadenas homogéneas de polímeros conformando una red tridimensional.

TABLA 1

POLÍMEROS MÁS UTILIZADOS SEGÚN SU COMPOSICIÓN

Origen	Nombre	Referencia
Natural	quitina	[4]
	quitosano	[6], [7]
	pululano	[10]
	sulfato de condroitina	[11]
	ovoalbúmina	[12]
	Ácido hialurónico	[13]
	alginato	[9], [14]
Sintético	Poli N-isopropilacrilamida (PNIPAAm)	[15]
	poli ácido N-isopropilacrilamidaco-acrílico (PNIPAAm-co-AAc)	[16]
	Poli etilenglicol ramificado (PEG)	[17]
	poli N-isopropilacrilamida -co-acrilamida (PNIPAAmco-AAm)	[10], [18]
	Poli óxido de etileno (PEO)	[19]
	poli N-vinilcaprolactama)	[20]
	polipéptido similar a la elastina (ELP)	[18]

En esta línea, este tipo de nanomateriales poseen múltiples propiedades que los hacen altamente biocompatibles, tales como su estabilidad física; baja tensión superficial; versatilidad de diseño con una gran variedad de grupos funcionales [5]; acceso celular por vía endocítica [4]; y alto contenido en agua [2-4], lo que favorece su hidrofilia, aumentando su permanencia en el organismo [4]. Asimismo, una de sus características más importantes es que ofrecen la posibilidad de encapsular o adsorber distintos bioactivos como fármacos de varios tipos, proteínas, péptidos, o células vivas [1-5, 21, 22]. Estos agentes se unen espontáneamente con la matriz del polímero a través de interacciones de diversa índole para formar nanoestructuras estables [3], [21]. Otra de sus propiedades más importantes radica en el comportamiento de hinchamiento [1-3, 23], lo que permite variar su volumen y

su morfología ante un estímulo determinado. Esta característica depende de las estructuras de los polímeros, del grado de reticulación y de la compatibilidad polímero-disolvente y, en consecuencia, determina su aplicabilidad [1].

En esta revisión se lleva a cabo una visualización general de las principales aplicaciones de los nanogeles en el terreno de la biomedicina como son la vectorización de fármacos y análisis de imágenes, así como de los inconvenientes o limitaciones de su utilización.

2. APLICACIONES A LA BIOMEDICINA

2.1. Vectorización de Fármacos

El direccionamiento de fármacos es quizás la aplicación más amplia de todas. Los nanogeles cuentan con la propiedad de poder albergar distintos agentes mediante interacciones físicas y químicas con el grupo funcional en la matriz del polímero, dando como resultado una clase única de nanovehículo polimérico con una alta estabilidad de suspensión [2], [5] que, posteriormente, produce la liberación controlada del contenido en una zona o tejido localizado, a través de su modificación estructural [1]. Debido a su tamaño y a la flexibilidad en su composición, los nanogeles pueden alcanzar todas las zonas del torrente sanguíneo, así como focalizar la liberación de su contenido, ya que pueden ser diseñados específicamente para su interacción con un tipo celular [1-5, 22]. Como se ha comentado anteriormente, esta liberación está desencadenada por variaciones externas tales como pH o temperatura, lo que hace a los nanogeles una herramienta muy adecuada para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, ya que la inflamación está vinculada a pH ácido, generación de calor, y variación iónica interna por incremento de la permeabilidad en la membrana [2], [3], [5], [7].

Por otro lado, las posibilidades de almacenamiento de los nanogeles abarcan desde agentes terapéuticos, como el ácido retinoico para tratamiento antitumoral [24] o el ácido valproico para tratamiento antiepiléptico [21], a biomacromoléculas como proteínas, péptidos, genes o nucleósidos [2], [4], [5]. Las investigaciones realizadas han mostrado una mayor eficacia de los agentes almacenados cuando su administración se realiza formando parte de un nanogel, así como una reducción en la toxicidad de los mismos y una mayor permanencia en el organismo [3, 5, 7, 18, 23, 25-29, 30-36]. Así, la administración de biomacromoléculas solas está asociada con una alta inestabilidad, rápida degradación y escasa absorción epitelial [5], por lo que el nanogel proporciona una matriz estable para la formación de complejos adecuados que permitan una mayor captación de éstas [37]. Por tanto, la vectorización de estos agentes ha sido empleada en multitud de aplicaciones biomédicas. A continuación se trata el uso de los nanogeles en terapias oculares, dérmicas, antitumorales e inmunológicas.

➤ **Aplicaciones Oculares:** el sistema ocular es un sistema de difícil acceso debido a la presencia de sus capas esclerótica, córnea, y retina. Igualmente, la carencia de

vascularización al cristalino y la córnea, la presencia de enzimas lisosómicas, el parpadeo, y el drenaje lagrimal, también suponen otras barreras para la entrada de agentes terapéuticos [5]. La capacidad mucoadhesiva de los nanogeles, así como su prolongada permanencia y su liberación controlada, permiten una mayor penetración del fármaco lo que produce un aumento del beneficio terapéutico. Una de sus aplicaciones, fue la fabricación de lentes de contacto [38], compuestas por una matriz de polimetacrilato de hidroxietilo, que contenían un nanogel de quitosano cargado con nanodiamantes (ND) y timolol como agente terapéutico para favorecer la segregación de la enzima bactericida lisozima. El uso de estas lentes produjo resultados favorables en el tratamiento del glaucoma. Asimismo, también se han reportado beneficios en el uso de nanogeles con fármacos antifúngicos para el tratamiento de infecciones oculares, produciendo un aumento de la permeabilidad corneal [39][40] con respecto al uso de fármacos libres, debido al aflojamiento del epitelio causado por la interacción del nanogel con las glucoproteínas corneales. Los análisis histológicos no mostraron daño celular. Estos sistemas también pueden proteger contra la eliminación del fármaco, así como aumentar su retención a través de la bioadherencia [4].

➤ **Aplicaciones Dérmicas:** la capacidad de los nanogeles de aumentar el rango de penetrancia de los agentes terapéuticos ha sido investigada en numerosas ocasiones debido al contacto prolongado con la piel que ofrecen los nanogeles. En esta línea, está vía de acceso para el fármaco puede, además, reducir los posibles efectos adversos del mismo y evitar su degradación por la flora intestinal [5], ya que poseen compatibilidad dérmica, así como fácil manejo y aplicación. La capacidad de los nanogeles de albergar partículas con carga compatible con los queratinocitos que forman la piel hace posible aumentar su permeación e incrementar su concentración en una zona concreta.

También se consideran nanogeles a aquellas matrices de hidrogel cargado con liposomas o nanoemulsiones [5], utilizadas principalmente en tratamientos cutáneos. Los liposomas son pequeñas burbujas nanométricas formadas por una bicapa lipídica, mientras que las nanoemulsiones están compuestas por una fase acuosa, aceite y un emulsionante adecuado. Se ha comprobado que ambas estructuras aumentan la capacidad de interaccionar con la membrana celular.

Con respecto a su uso, se obtuvo un aumento de la eficacia y una reducción de la toxicidad en la aplicación de nanogeles cargados con aceclofenaco, así como efectos antiinflamatorios [41]. Asimismo, también se han obtenido resultados positivos utilizando nanogeles de quitina que almacenaban fármacos antitumorales como curcumina y 5-fluorouracilo como tratamiento contra el melanoma, los resultados indicaban una fuerte focalización del fármaco en las células tumorales, sin interaccionar con otros tipos celulares, así co-

mo un gran aumento de la penetración de los fármacos [39], [40]. Otra de las aplicaciones transdermales para las que se ha llevado a cabo la elaboración de nanogeles es el tratamiento contra el acné, para el que se diseñaron nanoemulsiones con dos fármacos antiacné. Su aplicación redujo la severidad del acné, su irritación e inflamación [42]. Además de esto, existen más evidencias de la eficacia las nanoemulsiones para su aplicación transdérmica, así como los nanogeles en general.

➤ **Aplicaciones Inmunológicas:** otra de las aplicaciones clínicas que está tomando más importancia, es el uso de nanogeles como método de vacunación, ya que representan un efectivo soporte para administrar el antígeno objetivo a las células presentadoras de antígeno y obtener así la respuesta inmune deseada [5]. La capacidad de los nanogeles de conjugar un amplio rango de ligandos, así como sus características mucoadhesivas, han abierto un amplio rango de uso como vacunas. Se ha documentado su aplicación en vacunas por administración mucosa [37]. Nanogeles compuesto por colesterol unido a pululano con capacidad de actuar como una chaperona artificial y un fuerte adhesivo de células epiteliales, protegiendo los antígenos de la agregación y la desnaturalización, lo que lleva a la administración efectiva y progresiva de su forma nativa. Asimismo, se investigó la eficacia de nanogeles de la misma composición conjugado con una forma truncada de la proteína HER2 asociada a células tumorales del cáncer de colon, comprobándose la aparición de respuesta inmune citotóxica contra antígenos tumorales [43] y confirmándose, por tanto, su eficacia. La administración de nanogeles como método de vacunación se ha aplicado exitosamente contra bacterias como *Clostridium botulinum*, cuya toxina puede interrumpir la función nerviosa, usando como antígeno una forma recombinante de la región de los receptores de la neurotoxina botulínica [44]. Igualmente, se ha utilizado contra *Streptococcus pneumoniae*, causante de infecciones meningitis o neumonía, para la que se utilizaron polisacáridos neumocócicos (PCV13 y PPV23) como antígenos [45].

➤ **Aplicaciones Antitumorales:** los medicamentos para el cáncer tienen la desventaja de generar perjuicios para el paciente como su toxicidad o su inespecificidad [28]. Como ya se ha comentado anteriormente, los nanogeles representan grandes ventajas en la aplicación médica.

La capacidad de respuesta a estímulo ha supuesto un nuevo ataque cancerígeno ya que, tanto la hipertermia como las variaciones de pH son condiciones características de los tejidos cancerosos. Por ello, los sistemas de administración de fármacos anticancerígenos contenidos en nanogeles estímulo-sensibles se están investigando ampliamente como una nueva estrategia para la terapia tumoral activa [1], ya que estas condiciones pueden provocar una modificación en la composición y/o morfología del nanogel.

Existen dos mecanismos de actuación de los nanogeles

en contexto tumoral, activo y pasivo [1] (figura 1). El mecanismo activo consiste en el direccionamiento del nanogel a través de su unión con determinados ligandos, que serán reconocidos por la membrana de las células tumorales a través de la sobreexpresión de determinados receptores. Por otro lado, en el mecanismo pasivo el nanogel se cuela por los espacios intercelulares, donde se acumulan aumentando la permeabilidad celular y liberando los fármacos antitumorales progresivamente.

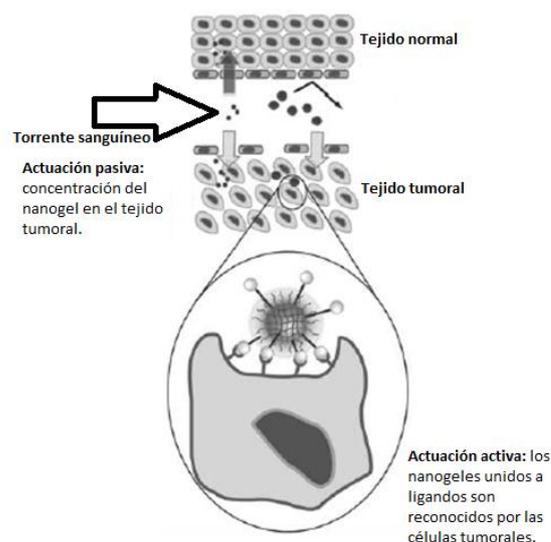


Fig. 1. Mecanismos de actuación, activo y pasivo, de los nanogeles en aplicaciones antitumorales. (Adaptada de Chacko, et al. 2012 [25]).

2.2. Análisis de Imágenes y Detección

Además de la vectorización de distintos agentes, los nanogeles han sido empleados también como instrumentos para el análisis de imágenes y las técnicas de detección. Una de sus utilidades surge de su combinación con los llamados Quantum Dots (QDs) [32]. Los QDs son nanocristales semiconductores cuya característica más llamativa es la fluorescencia, ya que pueden absorber energía lumínica en una longitud de onda y emitirla en otra distinta, pudiéndose obtener un amplio rango colorimétrico. Esta combinación facilita la entrada de los QDs en la célula sin provocar toxicidad. Las características anteriores, unidas con la capacidad de retención de los nanogeles en el tejido, hacen que puedan utilizarse como marcaje celular *in vivo*. Esta combinación también se ha utilizado exitosamente para provocar hipertermia en técnicas de radiofrecuencia contra el cáncer [15]. De la misma manera, los nanogeles pueden combinarse con una gran variedad de colorantes y fluoróforos, lo que permite realizar el seguimiento de los mismos en el organismo.

3. INCONVENIENTES

A pesar de todas las ventajas y beneficios que engloba el uso de los nanogeles, y del gran campo de aplicación que supone en el ámbito clínico, existe una serie de inconvenientes en su utilización. Uno de estos reside en la incapacidad de los nanogeles de encapsular moléculas

grandes, como los plásmidos, lo que restringe su administración intracelular [5]. Otra de las desventajas viene generada por el uso de nanogeles sintéticos (tabla 1) ya que, a pesar de proporcionar numerosas ventajas, pueden interactuar con los sistemas de transporte del fármaco activando distintas vías de señalización celular que alteren las respuestas inmune, genómica y/o farmacológica [2]. Igualmente, su combinación con algunos elementos como el Níquel, que proporciona capacidad bactericida, puede también provocar respuestas alérgicas y otros efectos secundarios [4]. Además de esto, la falta de dominios hidrofóbicos hace que no sean muy eficientes en la solubilización de fármacos hidrofóbicos no ionizables [2]. Otro de los inconvenientes documentados, es la heterogeneidad de carga dentro del nanogel cuando éste contiene proteínas, péptidos u otras biomacromoléculas, pudiendo provocar una liberación deficiente de las mismas. Otro importante concepto a tener en cuenta, es la posibilidad de que permanezcan trazas de productos utilizados (tensoactivos, surfactantes, disolventes, etc.) en la síntesis del nanogel, pudiendo generar toxicidad. Además, es importante saber que una alta carga de un material determinado en el nanogel puede provocar interacciones entre ambos, pudiendo limitar el movimiento de las cadenas y, por tanto, ver mermada su capacidad de hinchamiento y su estabilidad coloidal [27]. Por otro lado, muchos autores han convergido en que la obtención de estos biomateriales requiere un coste demasiado alto como para su escalamiento a la industria farmacéutica [27]. Por lo tanto, la balanza entre ventajas e inconvenientes dependerá, no sólo de la composición del nanogel, sino de la afección a tratar y la zona de aplicación.

4. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta revisión ofrece un breve pero amplio recorrido por las diversas aplicaciones biomédicas en las que se han utilizado los nanogeles poliméricos, abarcando tanto la vectorización de agentes, y todas sus subaplicaciones, como el análisis de imágenes. Se han reportado los múltiples beneficios que proporcionan gracias a sus propiedades, sin embargo, es importante recalcar que su utilización puede conllevar también distintos inconvenientes. Por ello, es imprescindible continuar investigando distintas composiciones y combinaciones de los nanogeles, comprobando su eficacia tanto *in vitro* e *in vivo*, y controlando exhaustivamente los distintos parámetros, al igual que su farmacocinética y la farmacodinámica. Esto va a permitir acercarnos aún más al desarrollo de tratamientos más localizados, así como menos tóxicos e invasivos, para finalmente conseguir superar los inconvenientes actuales. Poco a poco se está abriendo un inmenso e interesante campo de aplicaciones clínicas. Gracias estas estrategias, se pretende alcanzar el objetivo principal de mejorar la calidad de vida del paciente. Para concluir, se considera a los nanogeles una novedosa, potencial y prometedora herramienta terapéutica aún no explotada suficientemente, la cual se irá perfeccionando conforme se realicen futuras investigaciones.

5. AGRADECIMIENTOS

La autora de esta revisión muestra sus más sinceros agradecimientos a la profesora Ana Paula Zaderenko, por enseñarle todo lo que hay que conocer sobre el amplio campo de la Nanotecnología y crear en sus clases un ambiente ameno y divertido donde aprender.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] C. S. Choi and P. Kumar, "Recent advances of thermally responsive nanogels for cancer therapy," vol. 6, pp. 491-507, 2015.
- [2] D. Q. G. Oscar Escalona Rayo, "Nanogeles poliméricos: una nueva alternativa para la administración de fármacos Polymeric nanogels: a new alternative for drug delivery," *Rev. Mex. ciencias Farm.*, vol. 45, no. 3, pp. 17-38, 2014.
- [3] Y. Jiang, J. Chen, C. Deng, E. J. Suuronen, and Z. Zhong, "Click hydrogels, microgels and nanogels: Emerging platforms for drug delivery and tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 35, no. 18, pp. 4969-4985, 2014.
- [4] M. Vishnu Priya, M. Sabitha, and R. Jayakumar, "Colloidal chitin nanogels: A plethora of applications under one shell," *Carbohydr. Polym.*, vol. 136, pp. 609-617, 2016.
- [5] A. J. Sivaram, P. Rajitha, S. Maya, R. Jayakumar, and M. Sabitha, "Nanogels for delivery, imaging and therapy," *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology*, vol. 7, no. 4, pp. 509-533, 2015.
- [6] S. Nayak and L. Andrew Lyon, "Soft nanotechnology with soft nanoparticles," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 44, no. 47, pp. 7686-7708, 2005.
- [7] S. Vinogradov, "Colloidal Microgels in Drug Delivery Applications," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 12, no. 36, pp. 4703-4712, 2006.
- [8] W. Zhang *et al.*, "Synthesis and characterization of thermally responsive Pluronic F127-chitosan nanocapsules for controlled release and intracellular delivery of small molecules," *ACS Nano*, vol. 4, no. 11, pp. 6747-59, 2010.
- [9] H. K. Mi, J. C. Kim, Y. L. Hyeon, D. K. Jong, and H. Y. Jae, "Release property of temperature-sensitive alginate beads containing poly(N-isopropylacrylamide)," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 46, no. 1, pp. 57-61, 2005.
- [10] G. Fundueanu, M. Constantin, and P. Ascenzi, "Preparation and characterization of pH- and temperature-sensitive pullulan microspheres for controlled release of drugs," *Biomaterials*, vol. 29, no. 18, pp. 2767-2775, 2008.
- [11] I. Strehin, Z. Nahas, K. Arora, T. Nguyen, and J. Elisseeff, "A versatile pH sensitive chondroitin sulfate-PEG tissue adhesive and hydrogel," *Biomaterials*, vol. 31, no. 10, pp. 2788-2797, 2010.
- [12] R. Cheng *et al.*, "Reduction and temperature dual-responsive crosslinked polymersomes for targeted intracellular protein delivery," *J. Mater. Chem.*, vol. 21, no. 47, p. 19013, 2011.
- [13] H. Lee and T. G. Park, "Photo-crosslinkable, biomimetic, and thermo-sensitive pluronic grafted hyaluronic acid copolymers for injectable delivery of chondrocytes," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 88, no. 3, pp. 797-806, 2009.

- [14] K. Mallikarjuna Reddy *et al.*, "Temperature sensitive semi-IPN microspheres from sodium alginate and N-isopropylacrylamide for controlled release of 5-fluorouracil," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 107, no. 5, pp. 2820–2829, 2008.
- [15] N. S. Rejinold, T. Baby, K. P. Chennazhi, and R. Jayakumar, "Dual drug encapsulated thermo-sensitive fibrinogen-graft-poly (N-isopropyl acrylamide) nanogels for breast cancer therapy," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 114, pp. 209–217, 2014.
- [16] J. Zhang, D. Deng, H. Zhu, Y. Byun, V. C. Yang, and Y. Gu, "Folate-conjugated thermo-responsive micelles for tumor targeting," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 100 A, no. 11, pp. 3134–3142, 2012.
- [17] M. Zheng *et al.*, "Single-step assembly of DOX/ICG loaded lipid-polymer nanoparticles for highly effective chemophotothermal combination therapy," *ACS Nano*, vol. 7, no. 3, pp. 2056–2067, 2013.
- [18] A. Chilkoti, M. R. Dreher, D. E. Meyer, and D. Raucher, "Targeted drug delivery by thermally responsive polymers," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 54, no. 5, pp. 613–630, 2002.
- [19] A. Agarwal, R. Unfer, and S. K. Mallapragada, "Investigation of in vitro biocompatibility of novel pentablock copolymers for gene delivery," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 81, no. 1, pp. 24–39, 2007.
- [20] K. Madhusudana Rao, B. Mallikarjuna, K. S. V. Krishna Rao, S. Siraj, K. Chowdoji Rao, and M. C. S. Subha, "Novel thermo/pH sensitive nanogels composed from poly(N-vinylcaprolactam) for controlled release of an anticancer drug," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 102, pp. 891–897, 2013.
- [21] A. V. Kabanov and S. V. Vinogradov, "Nanogels as pharmaceutical carriers: Finite networks of infinite capabilities," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 48, no. 30, pp. 5418–5429, 2009.
- [22] T. Azegami, Y. Yuki, R. Nakahashi, H. Itoh, and H. Kiyono, "Nanogel-based nasal vaccines for infectious and lifestyle-related diseases," *Mol. Immunol.*, no. October, pp. 0–1, 2017.
- [23] S. V. Vinogradov, T. K. Bronich, and A. V. Kabanov, "Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: Preparation, properties and interactions with cells," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 54, no. 1, pp. 135–147, 2002.
- [24] T. K. Bronich, S. V. Vinogradov, and A. V. Kabanov, "Interaction of Nanosized Copolymer Networks with Oppositely Charged Amphiphilic Molecules," *Nano Lett.*, vol. 1, no. 10, pp. 535–540, 2001.
- [25] R. T. Chacko, J. Ventura, J. Zhuang, and S. Thayumanavan, "Polymer nanogels: A versatile nanoscopic drug delivery platform," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 64, no. 9, pp. 836–851, 2012.
- [26] W. Xiong *et al.*, "Dual temperature/pH-sensitive drug delivery of poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) nanogels conjugated with doxorubicin for potential application in tumor hyperthermia therapy," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 84, no. 2, pp. 447–453, 2011.
- [27] M. Malmsten, H. Bysell, and P. Hansson, "Biomacromolecules in microgels - Opportunities and challenges for drug delivery," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, vol. 15, no. 6, pp. 435–444, 2010.
- [28] S. Maya, B. Sarmiento, a Nair, N. S. Rejinold, S. V Nair, and R. Jayakumar, "Smart stimuli sensitive nanogels in cancer drug delivery and imaging: A review," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 19, no. 41, pp. 7203–7218, 2013.
- [29] N. Alles *et al.*, "Polysaccharide nanogel delivery of a TNF- α and RANKL antagonist peptide allows systemic prevention of bone loss," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 37, no. 2, pp. 83–88, 2009.
- [30] N. Mohammed, N. Sanoj Rejinold, S. Mangalathillam, R. Biswas, S. V. Nair, and R. Jayakumar, "Fluconazole loaded chitin nanogels as a topical ocular drug delivery agent for corneal fungal infections," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 9, no. 9, pp. 1521–1531, 2013.
- [31] J. Wu, X.-Q. Liu, Y.-C. Wang, and J. Wang, "Template-free synthesis of biodegradable nanogels with tunable sizes as potential carriers for drug delivery," *J. Mater. Chem.*, vol. 19, no. 42, p. 7856, 2009.
- [32] S. Rejinold N, K. P. Chennazhi, H. Tamura, S. V. Nair, and J. Rangasamy, "Multifunctional chitin nanogels for simultaneous drug delivery, bioimaging, and biosensing," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 3, no. 9, pp. 3654–3665, 2011.
- [33] F. Sultana, Manirujjaman, Imran-Ul-Haque, M. Arafat, and S. Sharmin, "An overview of nanogel drug delivery system," *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 8 SUPPL, 2013.
- [34] J. F. Coelho *et al.*, "Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments," *EPMA Journal*, vol. 1, no. 1, pp. 164–209, 2010.
- [35] Y. Sasaki, D. Iida, H. Takahashi, S. Sawada, and K. Akiyoshi, "Artificial Chaperone Polysaccharide Nanogels for Protein Delivery: A Thermodynamic Study of Protein-Nanogel Interactions Using Fluorescence Correlation Spectroscopy," *Curr. Drug Discov. Technol.*, vol. 8, no. 4, pp. 308–313, 2011.
- [36] G. S. L. Singka, N. A. Samah, M. H. Zulfakar, A. Yurdasiper, and C. M. Heard, "Enhanced topical delivery and anti-inflammatory activity of methotrexate from an activated nanogel," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 76, no. 2, pp. 275–281, 2010.
- [37] T. Nochi *et al.*, "Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines," *Nat. Mater.*, vol. 9, no. 7, pp. 572–578, 2010.
- [38] H. J. Kim, K. Zhang, L. Moore, and D. Ho, "Diamond nanogel-embedded contact lenses mediate lysozyme-dependent therapeutic release," *ACS Nano*, vol. 8, no. 3, pp. 2998–3005, 2014.
- [39] M. Sabitha, N. Sanoj Rejinold, A. Nair, V. K. Lakshmanan, S. V. Nair, and R. Jayakumar, "Development and evaluation of 5-fluorouracil loaded chitin nanogels for treatment of skin cancer," *Carbohydr. Polym.*, vol. 91, no. 1, pp. 48–51, 2013.
- [40] S. Mangalathillam, N. S. Rejinold, A. Nair, V.-K. Lakshmanan, S. V Nair, and R. Jayakumar, "Curcumin loaded chitin nanogels for skin cancer treatment via the transdermal route," *Nanoscale*, vol. 4, no. 1, pp. 239–250, 2012.

- [41] P. Atul A and C. Praveen D, "Development and Evaluation of Nanogel as a Carrier for Transdermal Delivery of Aceclofenac," *Asian J.Pharm.Tech*, vol. 2, no. 4, pp. 125-132, 2012.
- [42] A. Kubavat *et al.*, "Efficacy and safety of a nano-emulsion gel formulation of adapalene 0.1% and clindamycin 1% combination in acne vulgaris: A randomized, open label, active-controlled, multicentric, phase IV clinical trial," *Indian J. Dermatology, Venereol. Leprol.*, vol. 78, no. 4, p. 459, 2012.
- [43] S. Kageyama *et al.*, "Humoral immune responses in patients vaccinated with 1-146 HER2 protein complexed with cholesteryl pullulan nanogel," *Cancer Sci.*, vol. 29, no. 3, pp. 601-607, 2008.
- [44] M. P. Byrne, T. J. Smith, V. A. Montgomery, and L. A. Smith, "Purification, potency, and efficacy of the botulinum neurotoxin type A binding domain from *Pichia pastoris* as a recombinant vaccine candidate," *Infect. Immun.*, vol. 66, no. 10, pp. 4817-4822, 1998.
- [45] M. J. M. Bonten *et al.*, "Polysaccharide Conjugate Vaccine against Pneumococcal Pneumonia in Adults," *N. Engl. J. Med.*, vol. 372, no. 12, pp. 1114-1125, 2015.



Alejandra Suárez Carrillo recibió el título del grado en Ciencias Ambientales por la Universidad Pablo de Olavide en 2017. Actualmente cursa el Máster de Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide, especializándose en la rama de Terapia Celular.

La nanotecnología en las enfermedades de acumulación lisosomal

Isabel M^a Conde González

Resumen—Los lisosomas están involucrados en la degradación de sustancias moleculares. Cuando se produce alguna deficiencia en alguno de los componentes lisosomales, aparecen las enfermedades de acumulación lisosomal. Estas enfermedades se caracterizan por la acumulación de macromoléculas dentro de los lisosomas, lo que resulta en efectos patológicos que afectan a múltiples tejidos y órganos de todo el organismo. La barrera hematoencefálica constituye una barrera estructural, fisiológica y metabólica que protege al sistema nervioso central. Aunque diferentes estrategias han sido desarrolladas con el fin de producir un tratamiento capaz de atravesar esta barrera, y ser un tratamiento eficaz contra las enfermedades con manifestaciones neurológicas, hasta la fecha la mejor aproximación sería una combinación de ellas.

Palabras Claves— Enfermedad lisosomal, Gaucher, terapia, tratamiento, nanopartículas.

1. INTRODUCCIÓN

Los lisosomas son orgánulos celulares encargados de la degradación de diferentes sustancias, como lípidos, azúcares, sustancias extrañas.... Esta degradación la llevan a cabo gracias a la presencia de enzimas hidrolíticas capaces de actuar en el pH ácido de estos lisosomas [1]. Cuando se produce alguna deficiencia en alguno de los componentes lisosomales, aparecen las denominadas enfermedades de acumulación lisosomal (LSDs) [1], [2]. Las LSDs se caracterizan por la acumulación de macromoléculas dentro de los lisosomas, dando lugar a diferentes manifestaciones patológicas que afectan a tejidos y órganos de todo el organismo [1].

Uno de los principales problemas de estas enfermedades es la aparición de síntomas neurológicos, ya que el sistema nervioso central (CNS) puede verse afectado [2]. Aunque existen diferentes aproximaciones terapéuticas, ninguna ha resultado totalmente exitosa para tratar estos casos neuropáticos, debido principalmente a la incapacidad de los fármacos para atravesar la BBB.

En este trabajo vamos a hacer un repaso de todos los tratamientos desarrollados hasta la fecha, profundizando especialmente en el desarrollo de la nanotecnología aplicada a este campo.

2. ENFERMEDADES DE ACUMULACIÓN LISOSOMAL

Los lisosomas son compartimentos rodeados de membrana que se encuentran dentro del citosol de muchos tipos celulares, que están involucrados en la degradación de muchas sustancias moleculares como lípidos, azúcares, proteínas, ácidos nucleicos, así como de sustancias extrañas. Esta función de degradación es realizada gracias a la presencia de enzimas hidrolíticas ácidas que trabajan en conjunto con pequeñas moléculas activadoras dentro del lumen del lisosoma [1]. La deficiencia en alguno de los componentes de estos lisosomas, como de sus enzimas

hidrolíticas, conduce a un grupo de enfermedades conocidas como LSDs [1], [2].

Las LSDs se caracterizan por la acumulación de macromoléculas dentro de los lisosomas, lo que resulta en efectos patológicos que afectan a múltiples tejidos y órganos de todo el organismo [1]. Debido a su baja prevalencia, estas enfermedades se consideran enfermedades raras, ya que suelen encontrarse en una frecuencia de 1:15, aunque podemos encontrar grupos étnicos donde la frecuencia de alguna enfermedad concreta aumenta, como por ejemplo la enfermedad de Gaucher en los Judíos Ashkenazy [1], [2].

Las enzimas lisosomales se sintetizan en el retículo endoplásmico, a partir de los cuales se transportan en vesículas hacia el aparato de Golgi, y de ahí se dirigen al lisosoma. En este tránsito, las enzimas son modificadas mediante la adición de oligosacáridos que contienen residuos de manosas. Las enzimas glicosiladas pueden sufrir además procesos de fosforilación en esos residuos, presentando finalmente residuos de manosas-6-fosfato (M6P) [1]. Estas M6P son reconocidas por los receptores de membrana de los lisosomas, de manera que el complejo enzima-receptor es internalizado y transportado al lisosoma [1], [2].

3. BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

La barrera hematoencefálica (BBB) constituye una barrera estructural, fisiológica y metabólica entre el torrente circulatorio y el CNS. Se puede decir que actúa como un “filtro altamente selectivo” que permite o previene el paso de moléculas o tóxicos espontáneamente de la sangre al parénquima cerebral y al líquido cefalorraquídeo. Entre sus funciones se encuentra proteger la química y física del entorno del líquido cefalorraquídeo, previniendo la muerte celular prematura y la neurodegeneración [2].

La BBB está compuesta de tres elementos que presentan conexiones estrechas entre ellos: (i) células endoteliales que forman la microvasculatura dentro del tejido ce-

rebral; (ii) epitelio de los plexos coroideos, junto con el epéndimo epitelial que encierra los órganos ciconventriculares y los plexos coroideos; (iii) la membrana aracnoidea avascular subyacente a la dura, la cual encierra completamente el CNS, extendiéndose al sistema nervioso periférico como la neurilema alrededor de los nervios periféricos [2].

La mayoría de las moléculas que la atraviesan lo hacen a través de interacciones con receptores específicos expresados en las células endoteliales de los capilares cerebrales [2], [3]. Ciertas moléculas, como oxígeno, carbono, glucosa... pueden atravesar la barrera mediante difusión pasiva, o bien tienen mecanismos de transporte específicos para ellos embebidos en las membranas de las células endoteliales [2]. Los sistemas de transporte endógenos pueden clasificarse en tres categorías: (i) transporte mediado por proteínas transportadoras, que son proteínas especializadas y estereoespecíficas (como GLUT1, transportador de glucosa); (ii) sistemas que median el eflujo unidireccional de sustancias lipofílicas y xenobióticos (por ejemplo los receptores ABC); (iii) transporte mediado por receptor, los cuales constituyen receptores péptido específicos que pueden iniciar la endocitosis y transcitosis [2], [3].

La neurodegeneración se define como la pérdida progresiva de las estructuras y funciones neuronales [2]. Los datos de la acumulación de metabolitos en las LSDs sugieren que las alteraciones en la BBB podrían estar involucrados en estas enfermedades, así como en las enfermedades neurodegenerativas [2], [3]. Los cambios neuroinflamatorios que acompañan a la neurodegeneración comúnmente afectan a la BBB o a su función, mediante la alteración de los sistemas de transporte, afectando a su integridad, mejorando la entrada de células inmunes [2].

4. TRATAMIENTOS

4.1. Trasplante de médula ósea

Es la estrategia clásica. Consiste en el trasplante de médula ósea, con el objetivo de que la nueva médula produzca más células que contengan lisosomas sanos. La alta morbilidad de esta terapia hace que su uso sea casi inexistente. Una aproximación relacionada es la implantación de células sanas hematopoiéticas [1], [2], cuyas ventajas además serían una acción inmunomoduladora y antiinflamatoria [3].

4.2. Terapia génica

En este tipo de tratamiento se usan vectores virales para modificar las células. Se suelen usar vectores de adenovirus, virus adeno-asociados, herpesvirus, retrovirus y lentivirus, que son capaces de integrar las secuencias de genes exógenos en el genoma del huésped, de manera que se inserta el gen de la enzima deficiente [1], [2], [3].

Esta modificación puede realizarse in vivo o ex vivo. El primer caso es el más usado, se inyecta directamente el vector viral en las células del paciente. En el segundo caso, hay que extraer las células del paciente, modificarlas en el laboratorio, y volver a reimplantarlas [1], [2].

La desventaja de esta técnica es su ineficiencia en algunos tejidos, como en el CNS [1].

4.3. Terapia de reducción de sustrato (SRT)

Esta estrategia usa moléculas inhibitoras contra la enzima productora del metabolito que se acumula, con el objetivo de disminuir la biosíntesis, y por tanto, la acumulación de éste [1], [3]. Algunos de estos fármacos están ya clínicamente disponibles para tratar la enfermedad de Gaucher, como N-butildeoxinojirimicina (NB-DNJ o Miglustat) y N-butill-1-deoxigalactonojirimicina (NB-DGJ), que inhiben la glucosilceramida, enzima encargada de producir glucosilceramida a partir de UDP-glucosa [2], [3]. Aunque en teoría ambos compuestos podrían atravesar pasivamente la BBB, no se han obtenido buenos resultados en ensayos clínicos en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo III. Esto podría deberse a la limitada potencia de estas moléculas o a la naturaleza irreversible del déficit neurológico [3]. Además, miglustat presenta efectos secundarios adversos como perturbaciones gastrointestinales y temblores [2], [3].

4.4. Terapia de reemplazo enzimático (ERT)

Esta terapia consiste en la administración periódica de la enzima perdida o deficiente en su estado silvestre, con el objetivo de reducir o prevenir la acumulación del sustrato responsable de las manifestaciones clínicas [2].

Esta terapia es el principal tratamiento para las LSDs [1], aunque no es capaz de atravesar la BBB [3]. La causa principal es el alto peso molecular de las enzimas y la pérdida de expresión del receptor de M6P a este nivel [2].

4.5. Chaperonas farmacológicas (PC)

El incorrecto plegamiento de la enzima mutada resulta en un transporte ineficiente de ésta hacia el lisosoma [1]. El uso de chaperonas que se unen a estas enzimas provocando su correcto plegamiento hacen que se restaure su transporte hacia el lisosoma [1], [3]. La más interesante para la enfermedad de Gaucher es el iminoazúcar isofagomina, que se ha visto capaz de entrar en el cerebro en cantidades suficientes para incrementar los niveles de glucocerebrosidasa (GCS) en un modelo de ratón con afectaciones neuropáticas. En algunos casos, fármacos que ya han sido aprobados por la FDA para otras indicaciones podrían ser identificados para su uso como chaperonas farmacológicas [3].

4.6. Nanopartículas

Una estrategia novedosa es el uso de nanopartículas combinadas con la ERT para tratar las LSDs. Consiste en el encapsulamiento de las enzimas lisosomales recombinantes en polímeros biocompatibles, de manera que podrían mejorar la llegada de las enzimas a áreas de difícil acceso, como el CNS, controlando y prolongando la liberación de las enzimas [1], [2]. La nanotecnología representa una mejor estabilidad fisicoquímica y biológica, largo tiempo de circulación, biodisponibilidad mejorada, y la

posibilidad de marcar tejidos, órganos, células u órganos específicos con el compuesto activo [4].

En las últimas décadas se han desarrollado diferentes biomateriales, del tamaño de la nano escala, con el objetivo de aumentar la biodisponibilidad de compuestos terapéuticos, protegerlos de la degradación, controlar su tiempo de circulación y el rango de liberación, y proveer de una diana específica a las regiones del cuerpo afectadas por la enfermedad, mejorando así los resultados terapéuticos y minimizando los efectos secundarios. Algunas de las estructuras diseñadas para este fin han sido liposomas, nanoestructuras de carbono, dendrímeros ramificados, y polímeros anfífilicos (micelas autoensambladas o partículas de polímeros). Por ejemplo, para la enfermedad de Gaucher se han desarrollado microesferas de alginato que contenían GCS recombinante, obteniendo buenos resultados en el tejido óseo de ratones modelos [1]. En el caso de la mucopolisacaridosis tipo IV, se han sintetizado nanopartículas cargadas con arilsulfatasa B, enzima deficiente en esta enfermedad, y recubiertas con polisorbato 80, aunque no se han visto mejoras en las manifestaciones neurológicas en el modelo de ratón [2], [4].

La interacción de las nanopartículas con la membrana celular depende del tamaño, la forma y la química superficial del transportador, así como su internalización. Se identificó un tamaño óptimo de nanopartícula alrededor de 25-30nm, al cual la asimilación celular alcanzaba su máximo grado. Además se ha probado que la asimilación está regulada por la tensión de la membrana, la cual puede ser controlada por el tamaño de la partícula [4]. La superficie puede ser además modificada con la adición de fracciones de afinidad como anticuerpos, péptidos, azúcares o aptámeros, que promueven el reconocimiento por receptores específicos de las células afectadas, mejorando así la biodistribución [1], [4].

Se piensa que la mayoría de las nanopartículas entran en la célula a través de mecanismos endocíticos, por lo que podrían acumularse en endosomas y lisosomas. La elaboración de sistemas que marquen específicamente estas organelas serían una estrategia adecuada. Las transferrinas son uno de los ligandos marcadores endocíticos más ampliamente usados para la funcionalización de los sistemas de distribución de fármacos, así como las lipoproteínas de baja densidad (LDL) [4]. Este es el caso de la fusión de la GCS con la apolipoproteína B (ApoB), de manera que se facilitó la distribución intravascularmente con un vector lentiviral, alcanzando de esta manera el cerebro de ratones a través del receptor de las LDL [3].

Una proteína que sirve como marcador específico de las LSDs es la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), ya que se encuentra en células endoteliales afectadas que provocan inflamación, proceso involucrado en la mayoría de LSDs, o lo que es lo mismo, en la mayoría de las células diana de las LSDs [1], [4]. Su internalización no está mediada por receptores endocíticos, sin embargo, es capaz de promover la internalización de nanopartículas conjugadas con anti-ICAM-1. Un ejemplo lo encontramos en nanopartículas esféricas de poliestireno simple de aproximadamente 200nm, y otras con forma de bastón, conjugadas con anticuerpo anti-ICAM-1. Las nanopartículas

con mayor superficie específica, aquellas con forma de bastón, aumentaron su unión a receptores diana [4].

Este sistema parece ser la estrategia más prometedora para superar la limitación que supone atravesar la barrera hematoencefálica por parte de los fármacos, y así poder tratar las enfermedades con afectaciones neuropáticas, como es el caso de la enfermedad de Gaucher tipo III. De todos los tipos de nanopartículas que hay, dos parecen ser las opciones más adecuadas para la distribución cerebral: las nanopartículas poliméricas y los lípidos [4].

Dentro de las nanopartículas poliméricas las partículas más destacables son las hechas de poli-cianoacrilatos como poli-butil cianocriacrilato, copolímero con ácido glicólico del ácido poliláctico (PLGA) y citosano (CS) [4].

Las nanopartículas compuestas de polímeros biodegradables y biocompatibles como PLGA han sido aprobadas por la FDA para uso humano [2], [4], [5]. Estas matrices poliméricas previenen la degradación de los fármacos y pueden liberarlos controladamente [4]. Las PLGA modificadas con glicopéptidos (g7-NPs) han desencadenado eficazmente el paso a través de la BBB tanto in vitro como in vivo en animales modelos [2].

Las nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) consisten en un núcleo relativamente rígido compuesto de lípidos hidrofóbicos que son sólidos a temperatura ambiente y corporal, a veces rodeadas por una monocapa de fosfolípidos, y que pueden estabilizarse mediante la inclusión de surfactantes. Las ventajas de estas nanopartículas con respecto a otras son su baja citotoxicidad, su alta capacidad de carga y su adaptabilidad. Como desventajas, son unas moléculas caras de producir y sólo controlan la liberación del fármaco durante varias semanas [4].

Los liposomas son vesículas esféricas compuestas por al menos una bicapa lipídica que delimita un compartimento interior acuoso, lo que le permite llevar una variedad de moléculas hidrofóbicas, hidrofílicas y anfífilicas [1], [2]. Se han estudiado aplicaciones exitosas de liposomas conjugados con anticuerpos, o inmunolisosomas, que han transportado fármacos a través de la BBB, como es el caso de liposomas modificados con ocatadecil-rhodamina B lisosomotrópica (Rh) cargados con GCS terapéutica velaglucerasa alfa (VPRIV) para tratar la enfermedad de Gaucher [2], [4].

Un prometedor transportador para la distribución cerebral son las nanopartículas de albúmina sérica humana, debido a su naturaleza no tóxica y biodegradable. Por otra parte, otra alternativa que está proporcionando buenos resultados es la PEGNOLOGY [4], que consiste en conjugar las proteínas con polietilenglicol (PEG), ya que estos conjugados presentan propiedades mejoradas como por ejemplo, el aumento de la vida media en circulación o la reducción de la inmunogenicidad y antigenicidad. Estas nanopartículas constituidas por enzimas recombinantes lisosomales fusionadas a PEG establecen interacciones con moléculas de agua, generando una capa de hidratación "protectora" contra el reconocimiento por el sistema del complemento y las células inmunes [1]. Así, la conjugación de PEG a GCS aumenta el tiempo de circulación de la enzima modificada, además de proveer niveles más altos de actividad, lo que es un avance importante para el

tratamiento de la enfermedad de Gaucher [4].

La utilización de nanopartículas de cerámica, formada por compuestos inorgánicos como sílica, alúmina, metales, óxidos metálicos y/o sulfuros metálicos, debido a su baja biodegradabilidad y bajo perfil de disolución, no son inadecuados para su administración a largo tiempo. Por el contrario, el tamaño y las características de la superficie de las nanopartículas inorgánicas pueden servir para evitar el sistema reticuloendotelial [4].

Otro tipo de nanopartículas poliméricas que cabe destacar son las llamadas nanopartículas "inteligentes", formadas con biomateriales basados en hidrogel. Estas moléculas no-degradables mejoran la distribución citoplasmática de una variedad de moléculas terapéuticas, caracterizándose por su capacidad para "sentir" los cambios en el pH. A pH fisiológico cambian reversiblemente desde una conformación hidrofílica a una hidrofóbica [4].

5. CONCLUSIONES

Aunque existen diferentes estrategias que abordan las enfermedades lisosomales desde diferentes puntos de vista, un mejor entendimiento del mecanismo de las enfermedades permitiría el desarrollo de mejores intervenciones en varias etapas de la cascada de procesos que llevan desde la deficiencia inicial de la enzima, pasando por la acumulación de sustrato, hasta el paso final de disfunción neuronal y muerte. Por tanto, la mejor terapia para las LSDs sería una combinación de una o varias de las estrategias desarrolladas hasta la fecha.

Es de tener en cuenta, que mejoras usadas en algunas de las técnicas, como la glicosilación de las enzimas en las chaperonas farmacológicas, podrían así mismo implementarse en las otras estrategias. Por ejemplo, podrían usarse nanopartículas recubiertas residuos de manosas-6-fosfato para mejorar su direccionamiento hacia los lisosomas.

Uno de los principales problemas que presentan las nanopartículas es el tamaño, pues estamos hablando de encapsular varias enzimas, que ya de por sí pueden tener un peso molecular considerable. Habría que hayar la manera de encapsular la mínima secuencia peptídica que permita el correcto plegamiento y funcionamiento de la enzima para poder obtener un tamaño de nanopartículas de 10nm, pues es el tamaño que se ha visto capaz de atravesar la BBB. Si no, esta estrategia no sería apta para los casos con manifestaciones neuropáticas.

Los esfuerzos de la investigación están centrados en el desarrollo de nuevas estrategias alternativas que mejoren la distribución de los fármacos a través de la BBB, especialmente en el caso de las LSDs. Aunque se han conseguido avances significativos y hay diferentes aproximaciones desarrolladas, es importante seguir nuevas vías de abordaje como el desarrollo y uso de la nanotecnología en este campo. Los mecanismos que conducen al proceso de distribución de los fármacos, así como la evaluación relacionada con su eficacia y seguridad, hacen pensar que la

BBB no es una barrera impenetrable, y que, por tanto, podría conseguirse un tratamiento capaz de mejorar las manifestaciones neuropáticas.

REFERENCIAS

- [1] S. Muro, "New biotechnology and nanomedicine strategies for treatment of lysosomal storage disorders," *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.*, vol. 2, no. 2, pp. 189-204, 2010.
- [2] M. Scarpa, C. M. Bellettato, C. Lampe, and D. J. Begley, "Neuronopathic lysosomal storage disorders: Approaches to treat the central nervous system," *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 29, no. 2, pp. 159-171, 2015.
- [3] R. Schiffmann, "Therapeutic approaches for neuronopathic lysosomal storage disorders," *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 33, no. 4, pp. 373-379, 2010.
- [4] L. Martin-Banderas, M. A. Holgado, M. Duran-Lobato, J. J. Infante, J. Alvarez-Fuentes, and M. Fernandez-Arevalo, "Role of Nanotechnology for Enzyme Replacement Therapy in Lysosomal Diseases. A Focus on Gaucher's Disease," *Curr. Med. Chem.*, vol. 23, no. 9, pp. 929-952, 2016.
- [5] M. Bourdenx, J. Daniel, E. Genin, F. N. Soria, M. Blanchard-Desce, E. Bezar, and B. Dehay, "Nanoparticles restore lysosomal acidification defects: Implications for Parkinson and other lysosomal-related diseases," *Autophagy*, vol. 12, no. 3, pp. 472-483, 2016.



Isabel Mª Conde González, graduada en Bioquímica por la Universidad de Sevilla en 2016. Actualmente alumna del Máster en Biotecnología Sanitaria por la Universidad Pablo de Olavide.

Nanotecnología para modular el sistema inmune

Nuria Fernández-Fernández

Resumen—La modulación del sistema inmune es esencial para el tratamiento de enfermedades infecciosas y enfermedades autoinmunes, que presentan un gran número de personas. A través de la nanotecnología, se puede conseguir mejorar las respuestas inmunes necesarias para la inmunización. Las propiedades de las nanopartículas, definidas en especial por su forma, composición, tamaño y material permiten nuevas formas de administración, el direccionamiento de las moléculas a células inmunes concretas y favorecer un tipo de respuesta inmune concreta. La encapsulación de las moléculas en ensamblaje capa por capa es una de las estrategias de síntesis más prometedoras para los nanovehículos. Actualmente, se están investigando diversos tratamientos basados en nanotecnología para tratar enfermedades infecciosas como la malaria, para la que se han desarrollado dos vacunas, y enfermedades autoinmunes como el lupus y la encefalomiелitis autoinmune.

Palabras Claves— nanopartículas, sistema inmune, vacunación, enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes.



1. INTRODUCCIÓN

La modulación del sistema inmune se plantea como la base de nuevas terapias muy prometedoras para algunas de las enfermedades que actualmente son más prevalentes, como el cáncer, el VIH, la diabetes y las enfermedades autoinmunes. La inmunomodulación puede consistir en la activación del sistema inmune para generar una respuesta contra un antígeno específico, o la inducción de inmunotolerancia contra antígenos y fármacos inmunoactivos [1]. La nanotecnología es un campo que está creciendo exponencialmente, y es una herramienta muy útil para ambos objetivos. Tanto la composición, como las características fisicoquímicas de las nanopartículas, pueden influir en su interacción con las células inmunes, favoreciéndose uno u otro tipo de inmunomodulación [2, 3].

En esta revisión, se tratarán varias aplicaciones de la nanotecnología en la inmunomodulación: cómo la nanotecnología puede ayudar a alcanzar la población de células inmunes deseada, logrando su modulación; qué papel desempeña en el desarrollo de nuevas vacunas contra enfermedades infecciosas; y, por último, la contribución de la nanotecnología al tratamiento de enfermedades autoinmunes.

2. ACCESO DE LAS NANOESTRUCTURAS A LAS CÉLULAS DIANA

2.1. Rutas de administración

Las células clave involucradas en la inmunidad se concentran en los tejidos linfoides. Por tanto, dirigirse a estos tejidos facilita el acceso a las células inmunes y, en consecuencia, aumenta la eficacia de las nanovacunas.

Una forma de administración es a través de las mucosas. Los tejidos linfoides están asociados al entorno de las mucosas (MALT) a través de las células M, especializadas en la transcitosis de cuerpos extraños para que sean

reconocidos por las células inmunes residentes en MALT. Para que tenga lugar el transporte de forma eficaz, es necesario un equilibrio preciso entre las propiedades mucoadhesivas y de mucodifusión de las nanopartículas. Además, la fisiología de la mucosa varía a lo largo del cuerpo. Estas propiedades se definen por el tamaño y la composición de los nanovehículos, en especial la composición de la superficie. Aunque las propiedades de las nanopartículas dependerán de la zona del cuerpo en la que se administren, de forma general, el tamaño de la nanopartícula debe ser inferior al tamaño de la mucosa, y la presencia de un revestimiento de ácido poliláctico pegilado (PEG-PLA) favorece el transporte a través de las superficies mucales.

La administración parenteral, que incluye las administraciones intramuscular, subcutánea e intradérmica, es la principal vía de vacunación. A través de esta vía, según sus propiedades fisicoquímicas y composición, las nanopartículas pueden viajar directamente al nódulo linfático más cercano, o permanecer en el sitio de inyección y atraer a células dendríticas migratorias y macrófagos. El drenaje al ganglio linfático es, generalmente, inversamente proporcional al tamaño de las nanopartículas, siendo los 100 nm el tamaño óptimo. Por otra parte, también es de gran importancia la carga superficial, de forma que el drenaje se ve facilitado cuando las nanopartículas presentan carga negativa, debido a la repulsión que se genera con la matriz extracelular, cargada negativamente, y que actúa como una fuerza motriz del desplazamiento. Aun así, también se ha observado que la presencia de PEG en la superficie de los nanovehículos hace que su carga superficial se acerque a la neutralidad, con un efecto positivo en el drenaje hacia el nódulo linfático.

2.2. Células diana y respuestas

Las principales células diana en la modulación del sistema inmune son las células inmunes circulantes, que incluyen monocitos, macrófagos y células dendríticas.

Una de las estrategias para generar una respuesta inmune eficaz es diseñar nanovehículos que puedan alcanzar un subconjunto de células inmunes. Aunque no existe una conclusión clara, el enfoque más eficaz para dirigir a los nanovehículos hasta sus células diana parece ser proporcionarles ligandos específicos de direccionamiento. En el caso de los macrófagos, este ligando puede ser inmunoglobulina G, mientras que para las células dendríticas presenta buenos resultados la funcionalización de las nanopartículas de ácido poli láctico-glicólico pegilado (PEG-PLGA) con anticuerpos dirigidos a CD40, CD11c o DEC-205.

Otra estrategia consiste en usar adyuvantes que modifican la respuesta de un conjunto de células inmunes. Estas moléculas pueden imitar patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), para activar a diferentes receptores que conducirán a la respuesta inmune.

Para conseguir inmunizar contra las enfermedades infecciosas, es necesario estimular la respuesta celular y humoral. Se ha observado que existe una correlación entre el tamaño de las nanopartículas y su capacidad para favorecer la presentación cruzada. En general, los tamaños más pequeños mejoran la presentación cruzada y las respuestas Th1, mientras que los tamaños micrométricos tienen una mayor preferencia a generar respuestas Th2. Esto puede deberse a que las partículas más pequeñas, en especial con tamaños similares a los virus, son endocitadas por las células dendríticas, favoreciéndose posteriormente el escape endosomal, lo que impulsa la respuesta celular, mientras que los tamaños superiores a 500 nm conducen a una presentación más eficiente por el MHCII, generando respuestas humorales más fuertes. Aunque la unión de los antígenos a nanopartículas aumenta la activación de células B y con ello la respuesta humoral, las nanopartículas se pueden dirigir de forma directa hacia las células T CD8+ a través de células presentadoras de antígenos artificiales (aAPCs), que presentan marcadores celulares, activando la respuesta celular. La activación de células T CD8+ a través de aAPCs es mayor cuando se usan junto a partículas paramagnéticas y Quantum Dots.

En las enfermedades autoinmunes, es necesario generar una respuesta tolerogénica para controlar la respuesta inmune que tiene lugar contra los autoantígenos. En un individuo sano, las APCs eliminan y procesan los restos producidos durante la apoptosis, para presentarlos en los procesos de tolerancia. Para ello es esencial que los receptores de las APCs reconozcan la señal apoptótica y endociten los residuos. En base a ello, se han diseñado nanopartículas que porten en su interior las moléculas para las que se quiere generar tolerancia, y que presenten en la superficie señales de apoptosis, como la fosfatidilserina, para potenciar su captación por las APCs. Por otra parte, también es importante, la forma de la nanopartícula. Se ha observado que las nanopartículas nanorod son más eficientes para inducir respuestas tolerogénicas que las esféricas. Por último, cargar moléculas inmunomoduladoras, como la rapamicina o la vitamina D3, en los nanotransportadores, ayuda a las APC a alcanzar un estado tolerogénico [2].

3. ESTRATEGIAS PARA LA ENCAPSULACIÓN DE LAS MOLÉCULAS

Una de las estrategias para la encapsulación de las moléculas es el ensamblaje capa por capa (LbL), que implica la deposición o conjugación alternativa de especies interactuantes complementarias (típicamente polímeros, pero también pueden usarse proteínas, sacáridos, ácidos nucleicos, lípidos y nanopartículas) en un material de plantilla. En la mayoría de los casos, esta plantilla es sólida y puede ser tanto plana como coloidal o incluso tener una forma más compleja. Como fuerza motriz para el ensamblaje de LbL, la interacción electrostática, el enlace de hidrógeno y el acoplamiento covalente han sido los más explorados. El mayor activo de la tecnología LbL es su capacidad para funcionalizar prácticamente cualquier superficie con compuestos que difieren enormemente en propiedades fisicoquímicas y biológicas [3].

4. VACUNACIÓN CONTRA ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La gran mayoría de las vacunas actuales consisten en la administración de microorganismos vivos atenuados. Aunque han demostrado ser eficaces, presentan dos grandes problemas: necesitan refrigeración, restringiendo el acceso a ellas en países menos desarrollados, y pueden ser peligrosas si el patógeno es capaz de revertir a un estado más activo, pudiendo causar la muerte en individuos inmunosuprimidos, como las personas infectadas con VIH. Por ello, se han desarrollado vacunas basadas en antígenos purificados a partir de los microorganismos. Estas últimas, aunque más seguras para individuos inmunosuprimidos, son menos inmunogénicas. Las nanopartículas, por su propia naturaleza, presentan una habilidad inherente para facilitar la presentación cruzada de los antígenos. Los métodos principales basados en nanotecnología más prometedores incluyen: el direccionamiento de las nanopartículas a las APC para activar la presentación cruzada del antígeno; sintetizar nanopartículas con polímeros que respondan al pH para facilitar el escape endosomal del antígeno hacia el citosol; y transportar plásmidos de DNA en nanopartículas que se fagocitarán para permitir la producción intracelular del antígeno. Otra estrategia consiste en el uso de adyuvantes. Por ejemplo, el inflamasoma NALP3, que forma parte de los receptores citosólicos tipo Nod, que participa en la respuesta inmune, se puede activar con ácido úrico, sílica y con nanopartículas de (PLGA). La tendencia en los últimos años ha sido diseñar nanosistemas que combinan las propiedades intrínsecas de los nanovehículos con la encapsulación de los adyuvantes. De esta forma, combinando las propiedades mucoadhesivas del quitosano con los adyuvantes escualeno e imiquimod, un antagonista de TLR7/8, y administrando las nanopartículas por vía intranasal, se generan niveles de IgG mejorados y duraderos [4, 5].

Con nanopartículas, se han desarrollado dos vacunas contra la malaria. Una de ellas consiste en nanopartículas de poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) con un re-

vestimiento fosfolipídico, mientras que la otra se basa en vesículas multilamelares, ambas presentando el antígeno VMP001-malaria en la superficie. La administración subcutánea de ambas formulaciones en presencia del adyuvante MPLA condujo a fuertes respuestas celulares, así como a un perfil Th1/Th2 más equilibrado [2].

5. VACUNACIÓN PARA ENFERMEDADES AUTOINMUNES

En las enfermedades autoinmunes, las proteínas autólogas son reconocidas como antígenos extraños por el sistema inmune, lo que conduce a la generación de clones de células T y B autorreactivas. El tratamiento actual consiste en el uso de fármacos antiinflamatorios clásicos y en terapias inmunosupresoras, pero son terapias inespecíficas que conducen a importantes efectos secundarios. La nanotecnología puede permitir un tratamiento más específico, que solo afecte a las células inmunes autorreactivas [2].

Una de las posibles estrategias consiste en aprovechar las propiedades físicas y químicas, de los nanomateriales, entre ellos la toxicidad, para orientarlos y matar o inhibir a las células inmunes autorreactivas. Es el caso de los nanotubos de carbono de pared múltiple, que, cuando son inhalados, promueven la inmunosupresión sistémica sin causar daño pulmonar significativo, a través de un mecanismo dependiente de la secreción del factor de crecimiento tumoral beta, prostaglandinas e IL-10.

Otra estrategia es el uso de nanovehículos para la administración de compuestos antiinflamatorios a los fagocitos. Esta terapia se ha probado para la encefalomielitis autoinmune, mediante el uso de liposomas cargados con glucocorticoides y se obtuvo, con una dosis menor, una respuesta mayor que con el tratamiento de glucocorticoides convencional.

También se puede aprovechar la capacidad de las nanopartículas para el transporte direccional, para entregar autoantígenos a APC tolerogénicas. Se han utilizado núcleos de un gel que contiene ciclodextrinas encerradas en una bicapa lipídica, para suministrar ácido micofenólico a un modelo de lupus murino de forma dirigida a las células dendríticas, para que se presente en los controles de tolerancia, promoviéndose la supresión parcial de la enfermedad y su progresión.

Por último, se está investigando una estrategia diferente a los enfoques anteriores, que implica el suministro directo de moléculas tolerogénicas a las células T. Consiste en nanopartículas con moléculas de MHC unidas a su superficie, que presentan péptidos derivados de los autoantígenos. Esta estrategia se está probando en ratones modelos de diabetes, utilizando péptidos derivados de la proinsulina o cromogranina A, con la que se ha conseguido promover la delección clonal y la expresión de IL10 en algunas células T [6].

6. CONCLUSIONES

La modulación del sistema inmune es necesaria para luchar contra muchas enfermedades, como las enferme-

dades infecciosas y las enfermedades autoinmunes, que afectan a un importante número de personas. La nanotecnología es una herramienta con un gran potencial para modular el sistema inmune. Haciendo uso de las diferentes propiedades que pueden tener las nanopartículas, determinadas en especial por su composición, tamaño, forma y carga se puede conseguir la respuesta inmune deseada. La aplicación de la nanotecnología en el campo de la salud aporta múltiples opciones para el tratamiento de las enfermedades a través de la modulación del sistema inmune, permitiendo tratamientos dirigidos a células y órganos concretos, más específicos para cada enfermedad y con mejores resultados a dosis inferiores de fármaco. Además, representa una opción muy prometedora para personas inmunosuprimidas y para el tratamiento de enfermedades comunes de zonas más pobres, gracias a que las vacunas basadas en nanotecnología pueden conservar bien sus propiedades sin necesidad de refrigeración. Son numerosas las ventajas y aplicaciones que presenta el uso de la nanotecnología para la modulación del sistema inmune.

REFERENCIAS

- [1] Web del Dorland's Medical Dictionary for Health Consumers <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com>
- [2] Dacoba, T., Olivera, A., Torres, D., Crecente-Campo, J. y Alonso, M. J. "Modulating the immune system through nanotechnology". *Seminars in Immunology*, vol. 34, p.p. 78-102, 2017, doi: 10.1016/j.smim.2017.09.007
- [3] De Geest, B.G. "Engineering the immune system with particles, step-by-step". *Molecular immunology*, vol. n.d., p.p. n.d., 2018, doi: 10.1016/j.molimm.2018.02.015
- [4] Look, M., Bandyopadhyay, A., Bulm, J. y Fahmy, T. "Application of nanotechnologies for improved immune response against infectious diseases in the developing world". *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 62, p.p. 378-393, 2010, doi: 10.1016/j.addr.2009.11.011
- [5] Vicente, S., Peleteiro, B., Diaz-Freitas, B., Sánchez, A., González-Fernández, A. y Alonso, M. J. "Co-delivery of viral proteins and a TLR7 agonist from polysaccharide nanocapsules: a needle-free vaccination strategy". *J. Control Release*, vol. 172, p.p. 773-781, 2013, doi: 10.1016/j.jconrel.2013.09.012
- [6] Serra, P. y Santamaria, P. "Nanoparticle-based autoimmune disease therapy". *Clinical Immunology*, vol. 160, p.p. 3-13, 2015, doi: 10.1016/j.clim.2015.02.003



Nuria Fernández-Fernández recibió el título de Graduada en Biotecnología por la Universidad de Cádiz en 2017. Actualmente es estudiante del máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide.

Nanopartículas de oro en la detección viral

Carmen Frías Lobato

Resumen— Debido a la gran mortalidad que causan las infecciones virales a nivel mundial actualmente y la complejidad de los sistemas de detección viral existentes, es imprescindible el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico que permitan, no sólo detectar la carga viral en el paciente, sino también seguir el progreso del tratamiento. En este artículo se presentan las nuevas aplicaciones de las nanopartículas de oro en la detección de diferentes tipos de virus, como el Virus del Herpes Simple y el Virus del Papiloma Humano. Estos sistemas de detección utilizan nanopartículas de oro conjugadas con moléculas biológicas dirigidas a estructuras específicas del virus a detectar.

Palabras Claves— Nanopartículas de oro, detección, Virus del Herpes Simple, Virus del Papiloma Humano.

1. INTRODUCCIÓN

Los virus son agentes patógenos que están causando un aumento prominente de la morbilidad y la mortalidad en todo el mundo. Son altamente contagiosos y, además, las lagunas existentes en los sistemas de detección contribuyen a aumentar la incidencia de infecciones virales y enfermedades asociadas, siendo estas la principal causa de muerte a nivel mundial [1]. La implementación de herramientas de diagnóstico altamente sensibles y específicas tendría el potencial de identificar rápidamente las infecciones virales, iniciar y guiar los controles para, posteriormente, reducir su diseminación. Con este fin se han desarrollado recientemente varios enfoques nuevos basados en nanopartículas (NPs) [2].

Las excepcionales propiedades fotónicas, eléctricas y catalíticas de las nanopartículas de oro (AuNPs), junto con su especificidad de interacción molecular con varias biomoléculas (por ejemplo, anticuerpos y ADN monocatenario, entre otros), representan los principios de diseño de una amplia gama de sistemas de detección de virus. En comparación con otros tipos de nanomateriales, las AuNPs, constituyen herramientas ideales en la detección de virus por numerosas razones, que incluyen la facilidad de síntesis, caracterización y modificación de superficie, excelente estabilidad, biocompatibilidad y coeficientes de absorción excepcionalmente altos. Además, como agentes marcadores, las AuNPs se visualizan fácilmente debido a sus colores intensos [2].

En este artículo, se proporciona una revisión actual de la detección de diferentes tipos de virus basada en AuNPs. Los ensayos desarrollados son muy diferentes en diseño y principio subyacente, no obstante, la utilización de AuNPs conjugadas con biomoléculas dirigidas a virus específicos es un componente clave en la mayoría de ellos.

2. VIRUS DEL HERPES SIMPLE

El Virus del Herpes Simple (HSV) se encuentra entre los virus más prevalentes en los humanos. Hay dos tipos de HSV, serotípica y genéticamente diferentes: tipo 1 (HSV-1)

y 2 (HSV-2). Ambos tipos son capaces de infectar las células epiteliales de la piel o las superficies de las mucosas y pasar luego al sistema nervioso central, causando infecciones duraderas e incurables en los seres humanos. Estas infecciones son principalmente asintomáticas, pero pueden dar lugar progresivamente a complicaciones graves de salud. Por ejemplo, la infección por HSV-1 es la principal causa de ceguera infecciosa, mientras que la infección por HSV-2 puede desencadenar úlceras genitales. Sin embargo, estos virus están implicados en muchas otras afecciones clínicas, como encefalitis, conjuntivitis, lesiones cutáneas zosteriformes, neumonía e infecciones sistémicas que comprometen órganos vitales [2], [3].

Actualmente no existen vacunas protectoras contra los HSV, y tan solo unos pocos medicamentos disponibles comercialmente, como el aciclovir, el valaciclovir y el famciclovir, son útiles para controlar los síntomas y signos de infección. Además, la eficacia de estos medicamentos es cada vez menor debido al desarrollo de resistencia a los mismos por parte del virus. Por lo tanto, el diagnóstico precoz de la infección por el virus HSV es fundamental para controlar de manera efectiva su gravedad y aplicar el tratamiento más adecuado [2].

Por su color rojo característico, las AuNPs pueden utilizarse como marcadores colorimétricos en un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral (LFIA) para permitir la detección inmunológica del antígeno HSV. En la Figura 1 se muestra el diagrama de la tira de la prueba de detección. La inmunoglobulina anti-IgG humana conjugada con oro coloidal de 40 nm se pulveriza sobre una almohadilla localizada entre la almohadilla del tampón y el pocillo donde se deposita la muestra. Después de este pocillo, se sitúan tres reactivos separados (antígeno gG-1 recombinante, antígeno gG-2 nativo purificado, y anticuerpo anti-IgG humana de cabra) que se unen a una membrana de nitrocelulosa en fase sólida. El antígeno gG-1 se localiza en la línea de prueba más cercana a la muestra y sirve como un preabsorbente para anticuerpos contra HSV-1 presente en la muestra. La gG-2 nativa purificada se sitúa en la posición de la línea de prueba (T), mientras que una anti-IgG humana de cabra se localiza en la posición de la línea de control (C) [4].



Figura 1. Representación gráfica del sistema de detección del HSV [4].

La adición de un tampón de carga hace que el anticuerpo anti-IgG conjugado con oro y la muestra migren a través de la tira reactiva. A medida que la muestra migra, se pone en contacto secuencialmente con la línea de preabsorción HSV-1, la línea de prueba HSV-2 y finalmente la línea de control, que se une a la IgG humana presente en la muestra. Como resultado, los anticuerpos contra HSV se capturan en las líneas de prueba y se marcan con los anticuerpos anti-IgG humana conjugados con oro, lo que hace que aparezcan unas líneas rojas características. La formación de líneas de control y prueba indica un resultado positivo para HSV, mientras que la formación de una línea de control solo indica un resultado negativo para el virus. La ausencia de una línea de control indica que no se agregó ninguna muestra a la prueba (Fig. 2) [4].



Figura 2. Dispositivo de ensayo para la detección del HSV. (A). Dispositivo ejecutado solo con búfer. (B) Dispositivo ejecutado con un suero negativo para HSV-2. (C) Dispositivo ejecutado con sangre positiva para HSV-2.

3. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Las infecciones por el virus del Papiloma Humano (VPH) son las infecciones virales de transmisión sexual más extendidas a nivel mundial. Los VPH son patógenos altamente epiteliotrópicos que, generalmente, infectan la capa más profunda de la piel o las superficies genitales. La mayoría de las infecciones por VPH no causan síntomas y, por lo general, desaparecen por sí mismas sin causar problemas clínicos, pero las infecciones persistentes provocan complicaciones clínicas graves. Esta per-

sistencia generalmente depende del tipo de VPH que causa la infección. Los tipos de alto riesgo, como los VPH 16, 18, 31, 51 y 52, generalmente se asocian a muchos cánceres de cuello uterino, vagina, vulva, pene, ano, cuello y cabeza, mientras que aquellos con menor riesgo, como los VPH 6 y 11, se relacionan principalmente con verrugas anogenitales y papilomatosis respiratoria recurrente. Actualmente, el VPH se considera el virus causante de cáncer más importante, ya que está asociado con, aproximadamente, el 4.8% de todos los cánceres humanos. A pesar de esta alta importancia clínica del VPH, no hay tratamientos disponibles, y el uso de la vacuna bivalente contra los VPH 16 y 18 o la vacuna cuadrivalente contra los VPH 6, 11, 16 y 18 sigue siendo la primera y única opción para controlar la carga global de la enfermedad por VPH. De hecho, estas vacunas son relativamente costosas, y su eficacia está muy restringida a tipos específicos de VPH. Por lo tanto, el desarrollo de técnicas de diagnóstico precisas para la detección y tipificación del VPH es esencial para adquirir datos e iniciar programas de vacunación apropiados [2].

Los ensayos basados en AuNPs para la detección molecular del VPH consisten en ensayos fotoeléctricos, fluorimétricos, eléctricos y colorimétricos. En el ensayo fotoeléctrico (Fig. 3A), el ADN diana biotinilado amplificado por PCR se captura en la superficie del array de fotodiodos (PDA) por hibridación con las sondas de DNA, y luego se marca con anticuerpos IgG anti-biotina conjugados con AuNPs. Estas AuNPs mejoran la deposición de metal plateado sobre su superficie, ya que, promueven la reducción química de los iones de plata. La plata, que precipita sobre la superficie de las nanopartículas de oro, bloquea la luz irradiada desde arriba por diodos emisores de luz (LED) y disminuye, por tanto, la fotocorriente resultante. Es decir, la concentración de ADN objetivo se mide en proporción a la disminución de la intensidad de luz detectada eléctricamente usando un PDA [5].

Por otro lado, se ha desarrollado un ensayo fluorimétrico que utiliza microesferas de poliestireno funcionalizadas con proteínas ricas en electrones y sondas de captura del DNA diana como unidades de detección. Además, este ensayo se sirve de AuNPs doblemente funcionalizadas con enzima peroxidasa (HRP) y sondas de DNA complementarias al DNA diana (Fig. 3B). En este ensayo, las AuNPs se aplican para marcar el ADN diana capturado en la superficie de las microperlas. La HRP cataliza la oxidación de la biotina-tiramina con la ayuda de moléculas de peróxido de hidrógeno. Este proceso finalmente aumenta la deposición de restos de biotina en la superficie de las perlas, aumentando así la eficacia del marcado con conjugados de Quantum Dots-estreptavidina y produciendo una señal de fluorescencia mejorada que varía significativamente en función de la concentración de ADN diana [6].

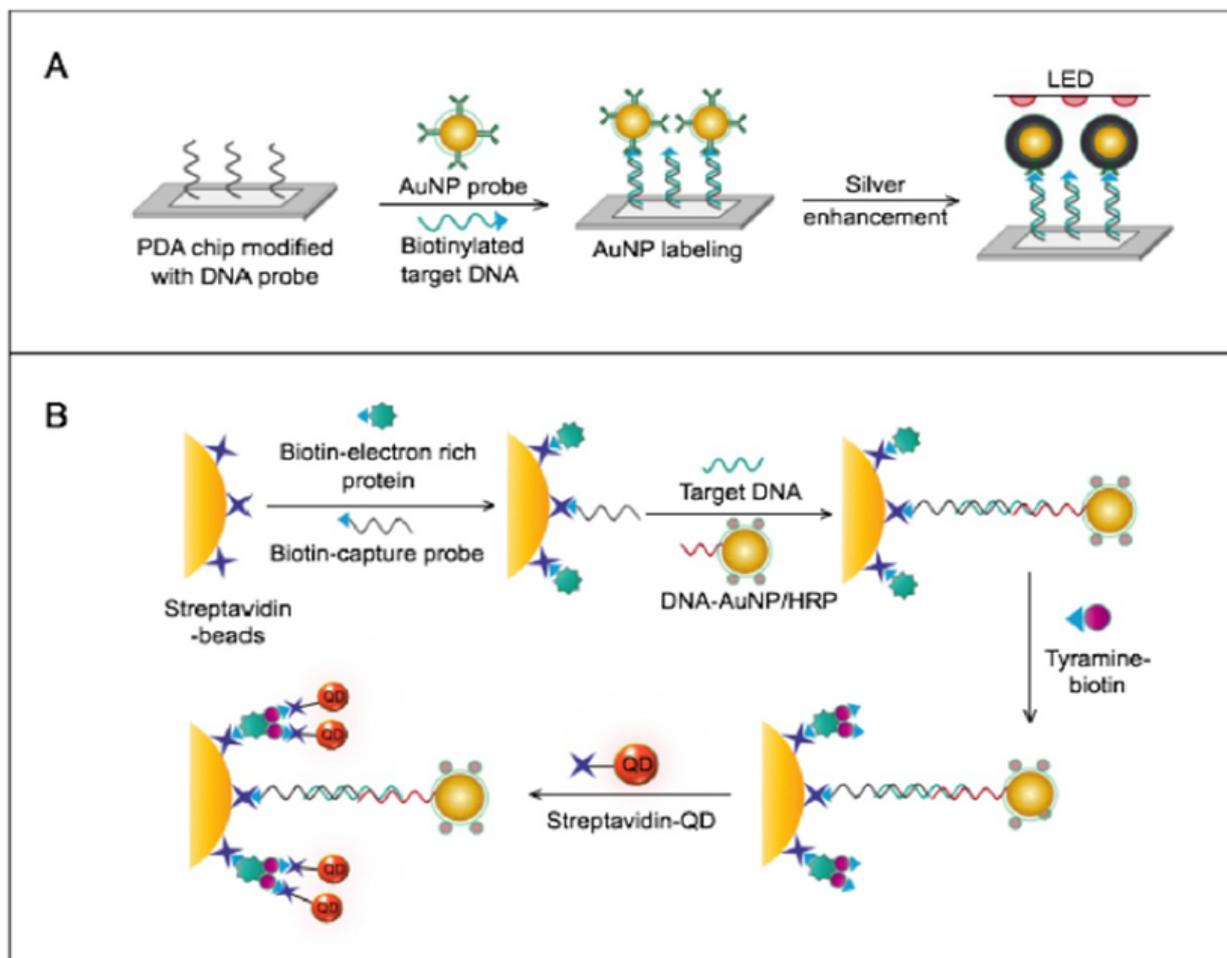


Figura 3. Esquema de los ensayos de detección del Virus del Papiloma Humano (HPV). (A). Sistema de detección basado en un array de fotodiodos (PDA). (B) Sistema de detección fluorimétrico basado en la integración de AuNPs doblemente funcionalizadas y microesferas funcionalizadas con proteínas ricas en electrones y sondas de DNA bionitiladas complementarias al DNA diana.

4. CONCLUSIONES

Las limitaciones en la detección y control de los virus aumenta la posibilidad de aparición o resurgimiento de una infección viral. En el pasado, muchos brotes de virus comenzaron como eventos locales y luego se expandieron hasta tener consecuencias globales, produciendo pandemias y epidemias graves en todo el mundo. Por ello, es de suma importancia el desarrollo de estrategias de control y detección efectivas.

El pequeño tamaño de los virus aumenta la dificultad de su aislamiento, visualización y detección en comparación con otros microorganismos, como bacterias y hongos que pueden examinarse fácilmente con microscopios de luz ordinarios.

El oro es un metal noble, inerte y no tóxico, que sintetizado en tamaño nanométrico, adquiere unas propiedades ópticas y eléctricas ideales para ser usado como biosensor. Por ello, las AuNPs han tenido un tremendo impacto en la detección viral. Al conjugarse con diferentes biomoléculas, las AuNPs han permitido el desarrollo de una nueva clase de sondas que han posibilitado mejoras sustanciales en el diseño, rendimiento, sensibilidad, especificidad y estabilidad de los sistemas de detección que las implementan. Esto supone una reducción del tiempo de detección y del coste total del proceso.

REFERENCIAS

- [1] J. Frenk, O. Gómez-dantés, and F. M. Knaul, "Globalization and Infectious Diseases," *Infect Dis Clin North Am*, vol. 25, pp. 593–599, 2011.
- [2] M. S. Draz and H. Shafiee, "Applications of gold nanoparticles in virus detection," *Theranostics*, vol. 8, no. 7, 2018.
- [3] Organización Mundial De La Salud, "Virus del Herpes Simple," 2017. [Online]. Available: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>.
- [4] E. I. Laderman et al., "Rapid , Sensitive , and Specific Lateral-Flow Immunochromatographic Point-of-Care Device for Detection of Herpes Simplex Virus Type 2-Specific Immunoglobulin G Antibodies in Serum and Whole Blood," *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 15, no. 1, pp. 159–163, 2008.
- [5] T. J. Baek, P. Y. Park, K. N. Han, H. T. Kwon, and G. H. Seong, "Development of a photodiode array biochip using a bipolar semiconductor and its application to detection of human papilloma virus," *Anal Bioanal Chem*, vol. 390, pp. 1373–1378, 2008.
- [6] H. Zhang, L. Liu, C. Li, H. Fu, Y. Chen, and M. Yang, "Multi-enzyme-nanoparticles amplification for sensitive virus genotyping in microfluidic microbeads array using Au nanoparticle probes and quantum dots as labels," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 29, no. 1, pp. 89–96, 2011.



Carmen Frías Lobato recibió el título de Graduada en Bioquímica con Mención en Bioquímica Molecular y Aplicada por la Universidad de Sevilla en el año 2017. Actualmente, es estudiante de primer curso del Máster en Biotecnología Sanitaria de la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.