

2º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT

9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación

Memorias Área de Ciencias Biomédicas y de la Salud

24, 25, 26 de septiembre 2014
Centro de Congresos Copacabana
Acapulco, Guerrero, México



UAGro
Dirección General de
Posgrado e Investigación

Comité Editorial

Consejo Editorial

Dr. Javier Saldaña Almazán (Presidente)
Dra. Berenice Illades Aguiar (Secretaria)
Dr. Justiniano González González (Vocal)
M. C. José Luis Aparicio López (Vocal)
Dr. Crisólogo Dolores Flores (Vocal)
Dr. Oscar Talavera Mendoza

Editor responsable

Dr. Oscar Talavera Mendoza



Fotografía de la portada: Cartel del 2º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT y el 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talentos en la Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero. Autor: Universidad Autónoma de Guerrero.

Editores por áreas del conocimiento

Dr. Elías Hernández Castro
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Agropecuarias

Dr. José Legorreta Soberanis
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José Francisco Muñoz Valle
Universidad de Guadalajara

Ciencias Biomédicas y de la Salud

Dr. José María Sigarreta Almira
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dr. Rodrigo Carramiñana
Southern Illinois University

Ciencias Exactas y Matemáticas

Dra. Laura Sampedro Rosas
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Ambientales y Desarrollo Regional

Dr. Ricardo Sánchez García
Universidad Autónoma de Guerrero

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Dra. Luisa Concepción Ballester
Southern Illinois University

Ciencias Sociales, Filosofía y Sociología

Responsable de la Edición

Dr. C. Juan Baltazar Cruz Ramírez

Coordinación Editorial

Lic. Isabel Rivero Cors
MFA Moisés Reyes Román

Corrección de estilo

M. C. Magdalena Martínez Durán

Tlamati Sabiduría; Volumen 5, Número Especial 2, 23 de Septiembre 2014 es una publicación trimestral editada por la Universidad Autónoma de Guerrero, a través de la Dirección General de Posgrado e Investigación. Domicilio: Javier Méndez Aponte No. 1, Col. Servidor Agrario, C.P. 39070. Tel: (01 747) 471 93 10 ext. 3091. Chilpancingo, Guerrero, México. Site de la revista: <http://posgradoeinvestigacion.uagro.mx> E-mail: tlamatisabiduria@outlook.com Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2009-040817000000-102. ISSN 2007-2066. Este número se publicó el 22 de Septiembre del 2014. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se autoriza la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación para fines didácticos.



Comité Evaluador del 2º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT

AREA: CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Dr. Adakatia Armenta Solís
M. C. José Legorreta Soberanís

AREA: CIENCIAS NATURALES, AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

Dr. José Luis Rosas Acevedo
M. C. Audel Sanchez Infante
Dr. Rafael Flores Garza
M. C. Carmina Torreblanca Ramírez
M. C. Ana Yolanda Rosas Acevedo

AREA: CIENCIAS SOCIALES Y ADMINISTRATIVAS

Dra. María Cárabe López
Dra. Judith Boruchoff
M.C. Elinó Villanueva González
Lic. Isabel Rivero Cors

AREA: CIENCIAS EXACTAS, INGENIERIA Y ARQUITECTURA

Dr. Juan Carlos Hernández Gómez
Dr. Octaviano Juárez Romero
Dr. Jorge Antonio Castillo Medina
M.C. Magdalena Rivera Abrajan
Lic. Vicente Castro Salgado
Dra. Marcela Ferrari Escolla



Contenido

Editorial VI

I. Área de Ciencias Biomédicas y de la Salud

Becarios Académia Mexicana de Ciencias

Bienestar psicológico en jóvenes universitarios, residentes del Valle de Toluca, México <i>Barragan Fitz Iliana, Vaqueiro Rodríguez Norma Karina</i>	307
Caracterización de un modelo para mutagénesis e inestabilidad cromosómica <i>Sanchez Cabañas Jose Noel</i>	313
Establecimiento de las condiciones de hipoxia en una cámara de oxígeno controlado para simular un tumor sólido <i>Zúñiga Zurita Mar Corazón</i>	318
Establecimiento del cultivo celular de la especie <i>Carica papaya l.</i> (papaya) en medio sólido <i>Sandoval Moreno José Manuel</i>	325
Polimorfismos del gen <i>cagA</i> de <i>Helicobacter pylori</i> aislados de pacientes pediátricos re infectados <i>González Leyva Ángel Samuel</i>	329

Becarios Programa Delfín

Alcance de los determinantes positivos en el apego terapéutico, de la diabetes mellitus II <i>Melquiadez Cruz María Azucena</i>	337
Análisis de expresión de receptores hormonales y <i>cerbB2</i> en pacientes con cáncer de mama del Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI <i>De La Sierra Caballero Ingrid, Germán Navarrete Maricruz</i>	339
Análisis de la reactividad de fructosa y maltosa frente acilación por resonancia magnetica nuclear <i>Valente Niño Gladys Wendy</i>	343
Análisis de la regulación de la expresión genética de los genes <i>phoH</i> y <i>ugtL</i> mediada por el regulador transcripcional <i>HilD</i> de <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Villalva Pérez Víctor Hugo</i>	349
Autoexploración mamaria para la detección oportuna de cáncer de mama y su relación con el autocuidado <i>Chopin Delgado Lizeth</i>	355
Auxiliares de diagnóstico en lesiones bucales <i>Silva Flores Ma. Azucena</i>	361
Capacitación para el diagnóstico de los trastornos temporomandibulares con los criterios de diagnósticos para los trastornos temporomandibulares <i>Sanchez Jimenez Saudi</i>	363

Determinación de la actividad antidiabética del extracto etanólico de <i>Annona muricata</i> L. (Annonaceae) <i>Chávez González José Daniel</i>	369
Comparación analítica de la capacidad buffer de niños y adultos <i>Fermín Torres Soto</i>	375
Determinación de la expresión de CRTAM en neutrófilos <i>Álvarez Hilario Lissuly Guadalupe</i>	379
Efecto del estradiol sobre la expresión del gene catalasa en ratones CBA/Ca infectados con <i>Plasmodium berghei</i> ANKA <i>Peralta Espinoza Mildred Arantxa</i>	387
Evaluación de la expresión de GFP en clonas de células C33A transfectadas con E6*II, producto de splicing del oncogén E6 del HPV 16 <i>Urucha Ortiz Juan Manuel</i>	390
Evolución del diagnóstico de los trastornos temporomandibulares (criterios de diagnósticos para los trastornos temporomandibulares [CD/TTM]) <i>Castro Casarrubias Raúl</i>	395
Experiencias de la mujer en el climaterio <i>Arredondo Ramos Genaro Emmanuel, Mosso Espinobarros Yuridia</i>	404
Factores que influyen en el trabajador de salud para no utilizar solución alcoholada en la realización de higiene de manos <i>Bautista Quiroz Francisco Javier, Pantaleón Martínez Oscar Israel</i>	408
Identificación de microorganismos de interés oral mediante pruebas bioquímicas y moleculares <i>Pedrote Alvarez Angelo Aramis, Téllez Serrano Efraín Joksan</i>	412
Interacción entre el transportador Glutamato/Aspartato GLAST y la proteína de andamiaje Ezrina en Células de Müller <i>Godoy Pacheco Alejandro</i>	419
Lactancia materna exitosa <i>García Jiménez Anadeli</i>	423
Meduloblastoma <i>Martha Silva Gisela</i>	428
Oncología Pediátrica <i>Briones Serrato Ma. Guadalupe</i>	432
Percepción del personal enfermero del cambio de turno para un "Enlace seguro - vida segura" en hospital de segundo nivel <i>Tapia Grande Alejandro Filogonio</i>	436
Polimorfismo -1154 G>A del gen de VEGF como factor de riesgo para desarrollar cáncer de próstata: Estudio preliminar <i>Cortez De La Puente Isabel Montserrat</i>	441
Regulación de los transportadores gliales de glutamina <i>Parra Vargas Merary Guadalupe</i>	447

Sarcoma fusocelular <i>Gatica Lozano Nohemi, Gatica Lozano Amairani</i>	452
Tumor retroperitoneal derivado del Síndrome de Alagille <i>Lorenzo Moran Lilia Yuridia, Villegas Porcayo Lizeth Ivonne</i>	455
Expresión de marcadores de troncalidad en líneas celulares cancerosas de cérvix <i>Karen Griselda de la Cruz López</i>	458

Becarios Universidad Autónoma de Guerrero

Análisis de enfermería de algunas causas de gerascofobia en el curso vital humano. Toluca, Estado de México, México, Julio, 2014 <i>Arumir Calderón Yamileth</i>	463
Dispersiones sólidas de Metronidazol - Polietilenglicol 4000 utilizando calentamiento por microondas <i>Ríos Noguera Luis Carlos</i>	475
Eficacia de las pruebas realizadas por el banco de sangre de Chilpancingo Gro. para la detección de la enfermedad de Chagas (infección por T.cruzi) <i>Albarran De La Luz Lizandra, Moreno Espinoza Mauritania</i>	480
Evaluación del efecto del estradiol sobre la expresión del gen IFN- γ en un modelo experimental de malaria murina <i>Araujo Arcos Lilian Esmeralda, Barragán Ramírez Beatriz</i>	487
La exposición a Fluoruro de Sodio (NaF) regula la expresión de los transportadores GLAST y SNAT3 en células de Bergmann <i>Dorantes Palma David</i>	496
Formación de dispersiones sólidas de Ibuprofeno-PEG4000 utilizando calentamiento por microondas <i>Estrada Castro Alma Karina</i>	503
Formación de dispersiones solidas Ranitidina-Polietilenglicol 4000 usando calentamiento por microondas <i>Mora Miranda Nikandra Sofía</i>	511
Riesgos y daños a la salud en las estudiantes de 20 a 25 años de edad del área de la salud <i>Hernández Hernández Mayra Rocío</i>	518



Editorial

Si reconocemos la actividad científica como una dinámica del pensamiento sustentada en un proceso metodológico, enfocado en demostrar las afirmaciones y conclusiones que los investigadores formalizan como consecuencia de sus observaciones, se hace necesario respetar y difundir los resultados de estos esfuerzos mediante nuevas propuestas para fomentar, evaluar y socializar la producción científica que se cristaliza. Además, debemos proveer los mecanismos para que estas propuestas sean evaluadas y acreditadas en todo nivel académico, sin descontar las posibilidades de discusión y respuesta por parte de la misma comunidad científica, con el fin de fomentar la interacción y el análisis crítico entre los investigadores y las instituciones que los amparan.

Tlamati Sabiduría como medio de difusión científica, está orientada a darle la oportunidad no solo a los investigadores establecidos para dar a conocer sus trabajos, también procura fomentar la participación de los jóvenes investigadores, quienes mediante la asesoría de sus mentores académicos, presentan sus trabajos en éste número especial, pensado como un medio para estimular y fomentar la investigación en los niveles educativos en los que tradicionalmente no se incluía esta función sustantiva. A 9 años del primer Coloquio de Jóvenes Talentos en la Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero, las responsabilidades y compromisos que los jóvenes investigadores tienen con la sociedad en la que se desenvuelven, están cada vez más instituidos en su formación académica en investigación.

Los trabajos en este número son parte de los trabajos expuestos en el 1er. Encuentro de Jóvenes en la Investigación de Bachillerato, así como en el 2º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT y 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talentos en la Investigación. A pesar de en los anteriores eventos se publicaron las memorias de manera informal, es con esta edición especial de *Tlamati Sabiduría* que nos permitimos promover la publicación de un número cada vez mayor de autores noveles, pero sin descuidar la relevancia de los trabajos publicados en este número.

Es necesario exponer que los trabajos presentados en este número especial de *Tlamati Sabiduría*, representan la discusión de los resultados primarios de una investigación, en donde las expectativas sobre las hipótesis y resultados todavía no llegan a un alto nivel de formalidad en la producción científica, pero provee de la materia prima para sustentar discusiones académicas, en donde los futuros investigadores podrán interactuar para poder proponer y trabajar en otros proyectos, que la sociedad leerá, aprovechará y evaluará provocando una sinergia académica sustentada en el análisis de los resultados presentados, estableciendo una cultura de vinculación y colaboración entre las Instituciones de Educación Media Superior y Superior y los Centros de Investigación y Posgrado en el país

Dr. Juan Baltazar Cruz Ramírez





Bienestar psicológico en jóvenes universitarios, residentes del Valle de Toluca, México

Iliana Barragan Fitz (Becario programa AMC)

amcverano@amc.edu.mx

Unidad Académica de Psicología de la U.A.Gro.

Norma Karina Vaqueiro Rodríguez (Becario programa AMC)

Unidad Académica de Psicología de la U.A.Gro.

Dra. Aida Mercado Maya (Asesora)

aidamercadom@hotmail.com

*Docente-Investigadora de la Facultad de Ciencias de la Conducta
de la Universidad Autónoma del Estado de México,*

Resumen

La promoción de la salud es una filosofía que se centra en la idea de que la buena salud, o el bienestar, es un logro personal y colectivo. Para un individuo, esto significa el desarrollo, en los primeros años de su vida, de un programa de hábitos de buena salud a observar durante su adultez y vejez (...)” (Taylor, 2007, p. 46). Por lo tanto la salud se encuentra determinada por conductas y hábitos, los cuales conforman un estilo de vida, el cual se define cómo el conjunto de pautas y hábitos comportamentales usuales de una persona y como aquellos patrones de conducta individuales que demuestran consistencia a través del tiempo, y que influyen en las conductas relacionadas con la salud, algunas veces en sentido favorable y otras en sentido adverso.

De acuerdo con lo anterior el objetivo de este estudio fue identificar el bienestar psicológico en jóvenes universitarios del Valle de Toluca, México. Para ello se utilizó la escala de Bienestar psicológico, desarrollada por Carol Ryff y adaptada al español por D. van Dierendonck (citado por Diaz et.al., 2006). Los cuales fueron aplicados a 150 jóvenes, de ambos sexos, entre los 20 y 30 años de edad.

El presente estudio se inserta dentro de la línea de investigación familia, subjetividad y límites sociales, del cuerpo académico: Socialización, juventud y estilos de crianza; el cual se encuentra adscrito a la Facultad de Ciencias de la Conducta de la UAEMex.

Palabras clave: Bienestar psicológico, estilos de vida, salud, enfermedad

Introducción

Los jóvenes, quienes son la esperanza o la fatalidad del mañana, de ello dependen las circunstancias en las que se vean inmersos. La juventud no tiene una definición exacta debido a que es concebida de distinto modo en las

diferentes culturas y contextos. Fussel y Greene, citado por Bradford Brown, Reed W. Larson y T.S Saraswathi 2002, afirman que:

(...) la definición de joven es fluida y arbitrariamente definida, tanto física como socialmente, y varía a través de las culturas y las eras. Para propósitos de este estudio, podemos estar de acuerdo en que en la mayoría de las culturas, la segunda, incluso la tercera década de la vida es una época donde pasan muchas cosas, un periodo donde las personas atraviesan cambios en sus roles y en las expectativas sociales de ellos (p. 59).

Al ser la juventud la esperanza del mañana, es necesario analizar y tomar en cuenta las dificultades y desafíos con los que se topa en la actualidad éste sector de la población. Al respecto Fussel y Greene mencionan que la juventud de hoy es posiblemente la más grande en la historia, así mismo, se confronta a una combinación de condiciones económicas, sociales, y pautas demográficas; del mismo modo, la juventud de hoy se enfrenta a cambios de ideas y filosofías de vida que son parte aguas de su manera de concebir la existencia. Debido a lo anterior, el modo de vida de sus padres y abuelos difiere de la de ellos.

Los resultados de la Encuesta Nacional de la Juventud 2010 (IMJUVE, 2011) arrojan que 36.2 de cada 100 habitantes son jóvenes (42.2% hombres y 50.8% mujeres) y que 52.9% se concentra en ocho entidades federativas: Estado de México, Distrito Federal, Veracruz, Jalisco, Puebla, Guanajuato, Chiapas y Michoacán. Sin embargo, el rezago educativo en el nivel medio superior y superior, la migración, el desempleo, la violencia, la delincuencia y las adicciones, son grandes problemas que afectan a esta población individual y colectivamente (calidad de vida y expectativas de migración en jóvenes de zonas rurales del Estado de México, Mercado, Salgado Patricia, 2013).

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en 2014, reportó que en México residían 31.4 millones de jóvenes de 15 a 19 años, monto que representa 26.3% la población total. En el primer trimestre de 2014, la tasa de desempleo de los adolescentes de 15 a 19 años y de los jóvenes de 20 a 24 años son de 9.8 y 9.2% respectivamente.

Durante 2012, 32.7 % de la población de 15 a 29 años no está afiliada o inscrita a servicios médicos.

De acuerdo a datos de la ENVIPE 2013, los temas que preocupan más a la población joven son la inseguridad y el desempleo (56.6 y 49.2%, respectivamente). En 2012 fallecieron aproximadamente 36 mil jóvenes, lo que en términos porcentuales representa 6.1% de las defunciones totales.

En la página oficial de Salud Pública en México, la población adolescente en general se percibe como sana, aunque 2% de ella considera que su salud es mala. La exposición a tabaco, medida en haber fumado 100 cigarrillos en su vida, es de 9% aunque sólo 42% de jóvenes nunca había fumado. La prevalencia aumenta conforme se incrementa la edad, llegando a 25% en jóvenes de 19 años. Situación similar se observa con la exposición al alcohol; en promedio, jóvenes de 10 a 19 años presentan una prevalencia de 11%, la cual se modifica con la edad. Llama la atención que desde los 15 años 10% de jóvenes consumen alcohol, y que a los 19 años la prevalencia asciende a 31%.

Un problema más en los jóvenes en México es la prevalencia de sobrepeso y obesidad; la ENSA 2000 muestra que el problema es más frecuente en las jóvenes. De hecho, desde los 16 años un tercio de las jóvenes en México presentan exceso de peso.

Por otra parte también se ha observado que El una contrariedad mayor que suele presentarse con frecuencia en este sector de la población son los accidentes y la violencia, que se expresa en los niveles más elevados de utilización de servicios. Los traumatismos y las fracturas representan un alto porcentaje dentro de los motivos de ingreso hospitalario.

Un estudio realizado por el Centro de Opinión Pública de la Universidad del Valle de México (UVM) sobre “Activación Física y Salud”, demostró que el 34% de la población, a pesar de ser preponderantemente joven, manifiesta tener al menos uno de los síntomas del síndrome metabólico (diabetes, hipertensión, entre otros) y el 20% de ellos habla de sobrepeso.

Debido a lo anterior es necesario analizar los estilos de vida que mantienen los jóvenes en México, ello permitirá tener un panorama sobre la calidad de vida que poseen, englobando mediante el modelo biopsicosocial aspectos fundamentales que se toman en cuenta para definir una buena calidad de vida. Así mismo, se pretende predecir las implicaciones y consecuencias que podrían generar en ellos los estilos de vida no saludables.

¿Qué se entiende por calidad de vida?, es preciso empezar con este cuestionamiento debido a que existen muchos intentos de definición. La calidad de vida se podría evaluar mediante el grado de felicidad del que goza cada individuo, sin embargo la felicidad sigue siendo un concepto relativo debido que de ello dependerá el contexto, el momento y la percepción de las personas; un ejemplo de ello lo encontramos en un estudio realizado por R. Inglehart, R. Foa, C. Peterson y C. Welzel (1981-2007) (citado por García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011), donde 13 países de América Latina, entre ellos México, reportaron un nivel de bienestar subjetivo muy por encima del nivel pronosticado por sus niveles económicos. Mientras tanto muchas investigaciones como las de E.Diener, M. Diener (1995) (citado por García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011) han encontrado una relación positiva entre el ingreso promedio de los países y la felicidad promedio de sus habitantes; lo anterior sugiere que la felicidad es un concepto difícil de definir, debido a que lo que hace felices a algunas personas no neces-

riamente hace feliz a otras.

Por otro lado la calidad de vida se podría medir mediante el bienestar de cada sociedad, es decir, que el individuo pueda cubrir las necesidades básicas; éste bienestar se traduce en el progreso de las condiciones de vida de cada persona, sin embargo, definir el progreso sigue siendo una tarea compleja debido a que no es un concepto universal. El concepto de progreso depende de la cultura, de la historia y de las creencias o valores personales (García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011, Bienestar y calidad de vida en México).

Para poder analizar el progreso de la sociedad es necesario tomar en cuenta los indicadores objetivos y subjetivos; la calidad de vida resulta ser uno de los indicadores para el bienestar, sin embargo, al igual que la felicidad, la calidad de vida resulta ser una definición complicada debido a que es un concepto amplio. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), el concepto de calidad de vida se define como: la percepción que un individuo tiene de su lugar en la existencia, en el contexto de la cultura y del sistema de valores en los que vive y en relación con sus expectativas, sus normas y sus inquietudes. Se trata de un concepto muy amplio que está influido de modo complejo por la salud física del sujeto, su estado psicológico, su nivel de independencia, sus relaciones sociales, así como su relación con los elementos esenciales de su entorno (García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011, Bienestar y calidad de vida en México).

Constanza et al (citada por García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011) propone una definición integral del concepto de calidad de vida de la siguiente manera: “la calidad de vida es el grado en el cual las necesidades objetivas de los seres humanos son alcanzadas en relación con las percepciones personales o grupales del bienestar subjetivo”.

Al respecto Levi y Anderson (1980) (citado por Oblitas, Guadalupe, Luis, et al, 2010) opinan que actualmente el concepto hace referencia a la evaluación objetiva y subjetiva de al menos los siguientes elementos: salud, alimentación, educación, trabajo, vivienda, seguridad social, vestido, ocio y derechos humanos; además, puede ser definido, en términos generales, como una medida compuesta de bienestar mental y psicológico, tal como lo percibe cada persona y cada grupo.

Por su parte Andrew y Withey (1997) sostienen que la calidad de vida puede entenderse como el conjunto de evaluaciones que el individuo hace sobre cada uno de los dominios de su vida actual desde esta perspectiva, y desde el campo de la psicología, la calidad de vida es un concepto básicamente referido al tipo de respuesta individual y social ante un conjunto de situaciones reales de la vida diaria (Oblitas, Guadalupe, Luis, et al, 2010).

La calidad de vida también es medida mediante la salud del hombre y los esfuerzos que éste realiza para mantenerla. León Rubio, José et al (2004), señalan que la psicología médica, psicología psicosomática y psicología clínica intentan mantener la salud del hombre y así otorgar una buena calidad de vida, sin embargo, estas disciplinas siguen concibiendo a la salud sólo como ausencia de enfermedad.

El modelo biomédico señala que salud es ausencia de enfermedad, que todo problema de salud tiene un origen biológico; es decir que se puede explicar por un mal funcionamiento de los procesos fisiológicos o por la acción de patógenos externos como las bacterias y virus. Así, las dolencias psicológicas pasan a ser consecuencia de la afección fisiológica; de este modo, se demerita el papel que juega sobre la salud del hombre las problemáticas psicológicas y sociales. Por lo anterior, desde el modelo biomédico, vigente aún en nuestro país, las acciones se ven reducidas al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, siendo éstas las únicas medidas sanitarias existentes.

El modelo biopsicosocial postula que la salud es un concepto amplio, donde entran en juego no solo los factores biológicos, sino que también aspectos psicológicos propios de cada individuo, así como el ambiente en que éste se desenvuelve. Dressler (1982) (citado por Oblitas, et al, 2010) postuló un modelo de discrepancia del cambio cultural, el cual menciona que la adaptación a la vida moderna no es problemática en sí, sino que solo deviene un problema cuando el individuo ve limitado el acceso a los recursos económicos, en cuyo caso se desarrolla lo que denomina estrés de estilo de vida o tensión resultante de conjugar un estatus socioeconómico bajo.

¿Qué es el bienestar? Hablar de Bienestar, es un tópico que siempre ha suscitado interés y al mismo tiempo gran controversia por la variedad de teorías, perspectivas o puntos de vista que han surgido a lo largo de la historia no sólo para la Psicología sino para muchas ciencias de la salud, el objetivo en común al estudiar el bienestar, es aumentar y mejorar la calidad de vida. Por otro lado es importante señalar que al estudiar el bienestar se ha citado el bienestar subjetivo “Equivalente a la felicidad” y el bienestar psicológico “Plena realización del propio potencial psicológico” (Carr, 2004).

Una de las primeras que se interesó en el estudio de la salud mental positiva fue Marie Johoda (1958) en su libro Conceptos actuales de salud mental positiva, propuso un modelo de salud mental positiva donde expuso seis criterios fundamentales (Sanchez, 2002), estos son: Actitud positiva hacia uno mismo: Crecimiento/ actualización personal, integración / equilibrio interior, autonomía razonable, percepción de la realidad, dominio del entorno.

A partir de este modelo, surgieron otros, como el de Carol Ryff (1989), quien se centra específicamente en el Bienestar Psicológico y así es como desarrolla el modelo de bienestar psicológico donde expone seis dimensiones básicas (Hervás, 2009.): Control ambiental, crecimiento profesional, propósito en la vida, autonomía, autoaceptación, relaciones positivas con otros.

Martin E. P Seligman (2011), considera que “(...) el bienestar es un constructo; y el bienestar, no la felicidad, es el tema de la psicología positiva” (p.38), es decir que varios elementos contribuyen a su creación, y así en su modelo desarrolla los elementos del bienestar:

La teoría del bienestar se conforma por “cinco elementos” (Seligman, 2011, p. 31), y cada uno de los cinco tiene tres propiedades. Los cuales son: Emoción positiva, compromiso, sentido, relaciones positivas, logro.

El bienestar entonces es “(...) una combinación de sentirse bien y de tener realmente sentido, buenas relaciones y logros. La forma de elegir el rumbo de nuestra vida es maximizar los cinco elementos en su totalidad” (p.39)

Además de los elementos y las fortalezas para alcanzar el bienestar se mencionan “características adicionales” (p.42): Autoestima, optimismo, resiliencia, vitalidad, autodeterminación, relaciones positivas. Seligman (2011), menciona que: “(...) el predominio de la depresión entre los jóvenes es sorprendentemente alto a nivel mundial”

Entonces, la pregunta que nos hacemos es: ¿Cómo está el bienestar Psicológico en nuestros jóvenes? Actualmente lo jóvenes están presentando muchos problemas de depresión, ansiedad, etc., factores que han llegado a desencadenar enfermedades psicosomáticas, es muy común que la mayoría a su corta edad, ya presenten trastorno del colon irritable, gastrointestinales, entre otros. Los aportes de la psicología de la salud han facilitado la investigación de factores psicológicos considerados predisponentes a las enfermedades, así como a su evolución y tratamiento (Hernández & Grau, 2006). Entre los cuales se encuentra el bienestar psicológico, autores como Diener y Biswas –Diener (2008) puntualizan que el bienestar no es un mero resultado de otras variables psicológicas, sino que es un importante predictor de la salud física, de la longevidad, de las relaciones interpersonales y del funcionamiento psicológico óptimo de las personas. El estudio se centró en aquello que hacia feliz a las personas, ya que una gran parte de las investigaciones sobre el bienestar estuvo centrada en el estudio de las diferencias individuales.

La persona feliz, según Diener (1994) es aquella con un temperamento positivo, con tendencia a ver el lado favorable de las cosas y que no se ancla en los eventos malos, tiene confidentes y amigos y posee adecuados recursos para encaminarse al logro de sus metas significativas, y por ende posee recursos para enfrentar satisfactoriamente las llamadas situaciones de estrés.

De acuerdo con este autor, se hace necesario examinar el contexto en el que se desarrollan las experiencias de las personas, los valores, las metas, cuando se evalúa la influencia de los eventos externos sobre la felicidad. También los llamados factores internos juegan un considerable papel, en especial las estructuras de la personalidad, en virtud de las cuales los eventos y las circunstancias son percibidos de una determinada manera. En general se señala que la autoconfianza, la estabilidad emocional, la fortaleza, la afectividad positiva y la autoestima pueden condicionar los niveles de bienestar en cualquier etapa del ciclo vital (DeNeve & Cooper, 1998), así como la autodeterminación y habilidad de competencia (Diener, Oishi & Lucas, 2003).

Para Andrews y Withey (1976), el bienestar tiene tres componentes básicos: 1) afecto positivo (AP); 2) afecto negativo (NA), y 3) los juicios cognitivos sobre el bienestar. Mientras que Lucas, Diener y Suh (1996) demostraron que la satisfacción vital (el juicio subjetivo sobre el bienestar) es un constructo diferente e independiente de los afectos positivos y negativos. Por tanto el bienestar es un constructo mucho más amplio que la simple estabilidad de los afectos positivos a lo largo del tiempo, denominado por la sabiduría popular como felicidad (Schumutte & Ryff, 1997).

En las investigaciones sobre bienestar se identifican dos líneas de trabajo (Keyes & Magyar -Moe, 2003). La primera está en relación con la evaluación de las emociones positivas y la percepción de la satisfacción general con la vida. En el primer caso, se evalúa el afecto momentáneo predominante, tanto positivo como negativo, en el segundo –satisfacción con la vida– se confía en el juicio cognitivo que establece el evaluado acerca de su satisfacción con la vida como un todo. A esta línea se la denominó *bienestar emocional*, y es la que derivó la mayor cantidad de investigaciones (Diener, Suh, Lucas & Smith, 1999).

Una segunda línea de trabajo considera que el bienestar es multidimensional y que es necesario considerar los aspectos sociales y del entorno para la evaluación del bienestar (Ryff & Keyes, 1995). Esta línea toma en cuenta las teorías del desarrollo humano óptimo, el funcionamiento mental positivo y las teorías del ciclo vital. Para estos autores el *bienestar psicológico* está diferenciado en seis dimensiones: 1) una apreciación positiva de sí mismo; 2) la capacidad para manejar de forma efectiva el medio y la propia vida; 3) la alta calidad de los vínculos personales; 4) la creencia de que la vida tiene propósito y significado; 5) el sentimiento de que se va creciendo y desarrollándose a lo largo de la vida; y 6) el sentido de autodeterminación.

Ryff (1989a, 1989b) por su parte sugirió un modelo multidimensional de bienestar psicológico compuesto por seis dimensiones: autoaceptación, relaciones positivas con otras personas, autonomía, dominio del entorno propósito en la vida, y crecimiento personal.

Con base en los planteamientos anteriores se puede referir que las prioridades que tienen las personas están en gran medida relacionadas con el bienestar que experimentan, y estas prioridades están a su vez determinadas por los objetivos vitales en el corto, mediano y largo plazo. Emmons, Cheung y Tehrani (1998) identifican que la estructuración de determinados objetivos de vida, son los responsables del mantenimiento del bienestar en el largo plazo. Así el éxito de las personas para alcanzar sus metas dependerá en gran medida de las estrategias utilizadas y de cómo pueden afrontar los inconvenientes que les plantea lo cotidiano de su existencia. Es una dimensión fundamentalmente evaluativa que tiene que ver con la valoración del resultado logrado con una determinada forma de haber vivido; centra su atención en el desarrollo de las capacidades y el crecimiento personal, concebidas ambas

como los principales indicadores del funcionamiento positivo.

Motivo por el cual es importante analizar la situación de nuestros jóvenes, así como crear las medidas necesarias para prevenir y promover su desarrollo, mejorando su calidad de vida; del mismo modo, tomando en cuenta su bienestar físico, psicológico y social. Derivado de lo anterior el objetivo de este estudio fue identificar el bienestar psicológico en jóvenes universitarios del Valle de Toluca, México

Método

Participantes

Se trabajó con una muestra no probabilística de tipo intencional, conformada por jóvenes universitarios hombres y mujeres, entre 20 y 30 años de edad, residentes de los municipios que conforman el Valle de Toluca (Toluca, Metepec, Lerma, San Mateo Atenco, Almoloya de Juárez y Zinacantepec). Los criterios de inclusión que se consideraron fueron: No cursar con unan condición crónica de enfermedad.

Instrumentos

Escala de Bienestar Psicológico

La escala de Bienestar psicológico fue desarrollada por Carol Ryff y adaptada al español por D. van Dierendonck (citado por Diaz et.al., 2006). En su versión original, la escala consta de 120 ítems distribuidos en seis dimensiones: Autoaceptación, Relaciones positivas con otras personas, Autonomía, Dominio del entorno, Propósito en la vida y Crecimiento personal. Para efectos de esta investigación se retoma la adaptación española, la cual está integrada por 39 ítems, a los que los participantes responden utilizando un formato de respuesta tipo Likert con puntuaciones comprendidas entre uno (totalmente en desacuerdo) y seis (totalmente de acuerdo). Distribuidos en seis factores, con valores Alfa de Cronbach mayores o iguales que 0.70.

Procedimiento

La investigación fue de campo, de tipo descriptivo transversal, con la finalidad de identificar la media y la desviación estándar de la variable de estudio. Se trabajó con un diseño ex-post-facto, el cual se utiliza para explicar un fenómeno que ya ocurrió. No se puede controlar, dado que las personas fueron socializadas a través de sus vidas. (Coolican, 2005). Se contactó a jóvenes que cursaran el nivel medio superior, en la ciudad de Toluca, Estado de México. Se les informó sobre los aspectos generales y el objetivo del estudio. Se les solicitó su autorización por escrito (consentimiento informado) para participar en la presente investigación. Una vez contestados los instrumentos se procedió a capturar los datos en el paquete estadístico SPSS, con la finalidad de llevar a cabo los análisis estadísticos preliminares. Se trabajó con la estadística descriptiva con la finalidad de obtener las medias y la desviación estándar de los factores que integran la Escala de Bienestar Psicológico..

Resultados

A continuación se describen los resultados preliminares obtenidos a partir del análisis de los datos. Los participantes obtuvieron un puntaje de media mayor en lo correspondiente a la autoaceptación, el crecimiento personal y el propósito de vida (ver Tabla 1).

Discusión

Los resultados que se presentan en torno al bienestar psicológico de los participantes son preliminares, ya que se está a llevando a cabo la aplicación de la escala a una muestra mayor con la finalidad de obtener los índices de confiabilidad y valides de la misma, en este sector poblacional.

De acuerdo con el puntaje de la media presentada por los participantes en los factores que integran la Escala de Bienestar Psicológico, estos son acordes con la etapa del desarrollo que cursan.

Conclusiones

Se puede establecer a partir de los resultados encontrados que los participantes en este estudio se muestran de acuerdo en cuanto a la autoaceptación, crecimiento personal, dominio del entorno y propósito de vida que presentan.

En cuanto a la relaciones personales y Autonomía, no están de acuerdo en cómo las están vivenciando.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Aida Mercado Maya por permitirnos ser parte de esta investigación, compartimos su sabiduría y tratarnos de una forma excelente durante nuestra estancia en la Facultad de Ciencias de la Conducta del Estado de México. De igual manera agradecemos a la Dra. Erika Robles Estrada, por lo conocimientos compartidos, sus atenciones y su disposición.

Referencias

Carr, Alan (2004) Psicología ositiva. Barcelona: Paidós, p.64.

Tabla 1
Medias y desviaciones estándar de los factores que integran la Escala de Bienestar Psicológico.

Factores	M	DE	Valor Mínimo	Valor Máximo
Autoaceptación	2.9000	.41235	1.17	3.83
Relaciones positivas	2.4033	.44833	0.83	3.67
Autonomía	2.4538	.41196	0.38	3.25
Dominio del entorno	2.7583	.40644	1.17	3.67
Crecimiento personal	2.8271	.44174	0.57	3.71
Propósito de vida	2.9882	.44112	0.17	3.67

Bibliografía

- De la Rosa, Alfreso Celis (2003). La salud de adolescentes en cifras. México, DF. Recuperado de: http://bvs.insp.mx/rsp/articulos/articulo_e2.php?id=001567
- Diener, E. (1994). "Assesing subjective well-heing: Progressand opportunities" en *Social indicators research*, 31, pp. 103-157.
- Diener, E. & Biswas -Diener, R. (2008). *Rethinking happiness: The science of psychological wealth*. Malden, MA: Blackwell Publishing.
- Diener, E., Oishi, S. & Lucas, R. E. (2003). Personality, culture, and subjective well-being: emotional and cognitive evaluations of life. *Annual Review of Psychology*, 54(1), 403-425.
- García Vega, José y Sales Heredia, Francisco, 2011, Bienestar y calidad de vida en México.
- Hervás, Gonzalo (2009). Psicología Positiva: una introducción. Madrid, España. Recuperado de: http://aufop.com/aufop/uploaded_files/articulos/1258587094.pdf
- León Rubio, José *et al*, 2004, psicología de la salud y de la calidad de vida.
- Oblitas, Guadalupe, Luis, et al, 2010 Psicología de la Salud.
- Seligman, Martin E.P. (2002) La auténtica Felicidad. Barcelona: Zeta, p. 440.
- Seligman, Martin E.P. (2011) Florecer. México: Océano, p. 371.
- Universia (2013, Mayo, 07). 34% de los jóvenes mexicanos sufren problemas de salud asociados al sedentarismo. Obtenido de: noticias.universia.net.mx/en_portada/noticia/2013/05/07/1021923/34-jovenes-mexicanos-sufren-problemas-salud-asociados-sedentarismo.html



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Caracterización de un modelo para mutagénesis e inestabilidad cromosómica

José Noel Sánchez Cabañas (Becario Programa Delfin).

noel-102@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Javier Espinosa Aguirre, Dr. Rafael Camacho Carranza, Bióloga Sandra Luz Hernández Ojeda y M en C. Blanca Estela Hernández Guadarrama (Asesores).

Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédica. Universidad Nacional Autónoma de México.

Resumen.

*El DNA continuamente sufre modificaciones debido a que está expuesto a una gran cantidad de xenobióticos, sin embargo se han descrito ampliamente mecanismos de reparación del DNA que ayudan contener con este daño, pero poco se sabe de los mecanismos involucrados en la formación de rearrreglos cromosómicos que producen la inestabilidad genómica, por ello tratamos de caracterizar la formación de rearrreglos en el genoma utilizando como modelo *Salmonella* entérica serovar typhimurium LT2. *Salmonella* y *Escherichia coli* divergieron de un ancestro común hace 150 millones de años y sus mapas genómicos son sinténicos, cuya principal diferencia es una inversión cromosómica presente en *E. coli*. Esto nos hace suponer la existencia de mecanismos, adicionales a los de reparación del DNA que mantienen la estabilidad de estas genomas, y la teoría de que los rearrreglos genómicos, como las inversiones cromosómicas, ocasionan la pérdida de la sintenia. En el genoma de *Salmonella* han descrito regiones en las cuales, secuencias repetidas invertidas pueden recombinar para formar inversiones, pero otras regiones como el intervalo histidina-triptófano (*his-trp*) se han descrito como prohibidas para la formación de estos rearrreglos. Utilizando como modelo a *Salmonella*, se generaron las cepas mutantes *fliK* y *yafE* por inserción de transposones en las cuales la restricción para la inversión fue liberada. El objetivo de este estudio es confirmar la inserción en la mutante *fliK* y describir su comportamiento en los mecanismos involucrados con la restricción en la formación de inversiones, mediante la evaluación con mutágenos de acción directa e indirecta en el DNA; de ser este un fenómeno general, nos permitiría generar un modelo amplio para evaluar el efecto mutagénico en la estabilidad genómica, que involucre eventos recombinogénicos como las inversiones.*

Palabras clave: *Salmonella*, mutante *fliK*, inversión, inestabilidad cromosómica y modelo.

Introducción.

El DNA continuamente sufre modificaciones debido a que está expuesto a una gran cantidad de xenobióticos, sin embargo se han descrito ampliamente mecanismos de reparación del DNA que ayudan contener con este daño, pero poco se sabe de los mecanismos involucrados en la formación de rearrreglos cromosómicos que producen la inestabilidad genómica, por ello tratamos de caracterizar la formación de rearrreglos en el genoma utilizando como modelo *Salmonella* entérica serovar typhimurium LT2 (Tuteja *et al.*, 2001; Sinha y Häder, 2002; Emanuel y Scheinfeld, 2007; Azerad, 1999). *Salmonella* y *Escherichia coli* poseen un mapa genético casi idéntico (sintenia) a pesar de que han pasado 150 millones de años desde que divergieron de un ancestro común (Ochman y Wilson, 1987),

lo anterior, supone la existencia de mecanismos adicionales a los de reparación del DNA, que estabilizan el genoma y pudieran estar evolutivamente conservados. Sin embargo existen una variedad de agentes xenobióticos a los que está expuesto el genoma y que pueden causar diversos daños genotóxicos, llevándolo a la formación de rearrreglos cromosómicos y la pérdida de la estabilidad genómica.

En el genoma de *Salmonella typhimurium* se han descrito regiones en las cuales, secuencias repetidas invertidas pueden recombinar para formar inversiones -rearrreglos que ocasionan la pérdida de la sintenia- pero existen otras, como el intervalo histidina-triptófano (*his-trp*) prohibidas para recombinación (Segall et al., 1988), sin embargo la mutación del gen *tus*, involucrado en replicación, lo hace permisivo. Utilizando como modelo a *Salmonella Typhimurium*, se generaron cepas mutantes por inserción de transposones, en las cuales la restricción para la inversión en el intervalo *his-trp* fue liberada. Los genes candidatos con este fenotipo son *fliK* y *yafE*, el primero es responsable del control en la longitud del flagelo en *Salmonella typhimurium* y *E. coli* (Macnab et al., 1996), mientras que *yafE* es una metiltransferasa que participa en la síntesis de menaquinona durante la respiración anaerobia. Es interesante describir el papel de estas mutantes en procesos de recombinación y replicación, pues hasta ahora no se ha reportado su papel en estos eventos. Debido a lo anterior, se propuso evaluar el efecto de compuestos mutagénicos (metilmetanosulfonato, etilmetanosulfonato, MMS; 9-aminoacridina, 9AA y benzoapireno, B[a]p) que se unen de manera directa e indirecta en el DNA esperando que las frecuencias de inversión (un evento que involucra recombinación y replicación), en las cepas mutantes se modifiquen (Jiao et al., 2007; Staal et al., 2007).

La hipótesis plantea que los compuestos mutagénicos MMS, EMS, 9-AA y el B[a] P afectarán frecuencia de los eventos de inversión.

Metodología

El diseño experimental, se describe en la figura 1 y en la tabla 1 se describen los genotipos.

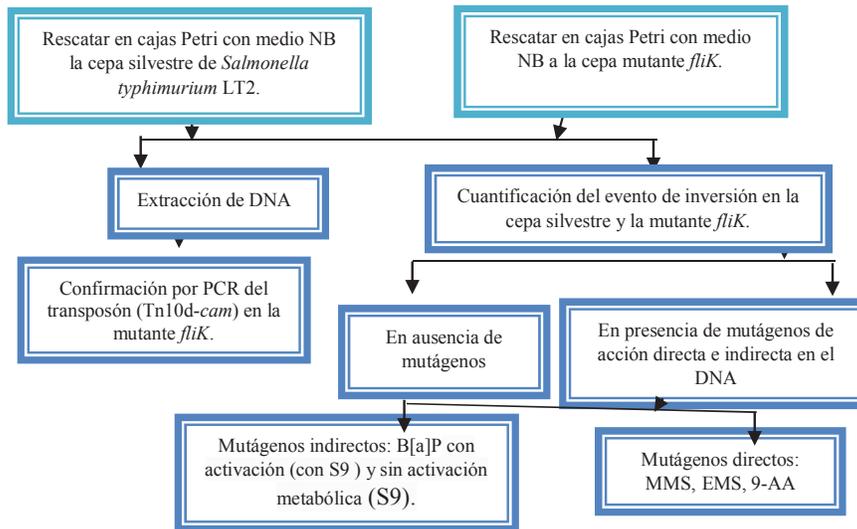


Figura 1. Descripción del diseño experimental

Tabla 1. Genotipo de las cepas utilizadas en éste estudio

CEPA	GENOTIPO	REFERENCIA
Cepa silvestre <i>Salmonella Typhimurium</i> LT2 (sin plásmido pSLT)	Sty(LT2) wt	α
Mutante <i>yafE</i>	Como la cepa RC13 zzz-3938::Tn10d-cam	β
Mutante <i>fliK</i>	Como la cepa RC13 zzz-3940::Tn10d-cam	β
Mutante <i>ydgT</i>	Como la cepa RC13 zzz-3941::Tn10d-cam	β
Mutante <i>tus</i>	Como la cepa RC13 pmi tus1::Mud-cam	β
Cepa silvestre <i>Salmonella typhimurium</i> LT2 (con el sistema de inversión)	Sty(LT2) srl-201 hisD9953::Mud(DEL1852[lacZ-hisE]) trpED2490::MudA(lacZ3113::Tn10d-tet) recD561	α

* α - Cepa proporcionada por el Dr. John Roth, University of Davis. C.A. USA y β -Cepa construida por el Dr. Rafael Camacho, IIB.UNAM. México, D.F.

Productos químicos: Los mutágenos empleados en el presente trabajo fueron comercializados en SIGMA ALDRICH®. Los compuestos metilmetanosulfonato y etilmetanosulfonato fueron disueltos en agua MilliQ estéril a una concentración de 0.6 y 2.3 mg/ml, respectivamente, mientras que la 9-aminoacridina (20µg/ml) y benzopireno (0.25µg/ml) en dimetilsulfóxido (DMSO).

Aislamiento de DNA bacteriano; se rescataron las cepas en cajas con medio NB (Nutrient Broth, Difco®). Al día siguiente se inoculó un cultivo de 5ml de NB líquido y se dejó crecer toda la noche (overnight), posteriormente se centrifugó durante 10 minutos a 10,000rpm en una minicentrífuga (Hettich®) a temperatura ambiente; se decantó el medio y se resuspendió el pellet en 500µl de TEN (tris-base 50 mM pH 8, EDTA (ácido amino tetra acético) 50 mM y NaCl 100 mM) pH 8.1, se agregó lisozima(5mg/ml⁻¹) y 4 µl de RNAsa (10mg/ml). La mezcla anterior se colocó en hielo-agua durante 5 minutos y se le agregó 20µl de SDS (0.5%), posteriormente se colocó en hielo-agua durante 10 minutos. Después se colocó el tubo en un baño a 60 °C durante 10 minutos, se agregó fenol (1 volumen), se agitó por inversión hasta homogenizar la mezcla y se centrifugó a 13500 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Se recuperó la fase acuosa y se agregó un volumen de la mezcla cloroformo-alcohol isoamilico (relación 24:1), se agitó por inversión y se centrifugó a 13000 rpm durante 20 minutos a 4 °C. Se recuperó la fase acuosa y se agregó acetato de potasio 0.3M final, se agitó por inversión, se añadió 0.6 volúmenes de isopropanol y se incubó a -20 °C durante 1 hora. Después se centrifugó a 10,000rpm, durante 15 minutos a 4°C, se desechó el sobrenadante y se realizaron 3 lavados con etanol al 70% a -20 °C (después de cada lavado se centrifugó 15 minutos a 10,000rpm); en el último lavado se decantó el sobrenadante y se dejó secar los residuos de etanol. Finalmente los residuos de etanol se evaporaron a temperatura ambiente y se resuspendió la pastilla en H₂O grado PCR. La pureza e integridad del DNA se realizó mediante la lectura en el espectrofotómetro nanodrop 2000® (TermoScientific®) de acuerdo al manual del proveedor.

Electroforesis en gel de agarosa al 1%; se preparó un gel de agarosa al 1% y se colocó en la cámara de electroforesis con solución buffer TAE (1X) hasta cubrir el gel. Se prepararon las muestras de DNA con buffer de carga (6X) (0.25% de bromofenol azul, 0.25% de xilencianol, 15% de ficol tipo 400) y se colocaron en el gel de agarosa, además del marcado de peso molecular 1kb plus (Invitrogen®), se colocó la tapa de la cámara y se corrió el gel a 100 volts durante 40 minutos. El revelado del gel se analizó empleando bromuro de etidio (0.5µg/ml).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR); se realizó la mezcla de PCR en forma convencional (en tubos Eppendorf) y en capilares de vidrio. La reacción fue de 20 µl: 10.64 µl de H₂O grado PCR; 2.3 µl de ADN polimerasa (EDB:2.5 mg/ml BSA SIGMA®, 10 Mm Tris pH [8.3] SIGMA®, 5.0 U/ µl TaqPromega®); 2.66µl de buffer de baja salinidad (500mM Tris pH [8.3], 2.5 mg/ml BSA, 20 mM MgCl₂, 5% Ficoll); 2.0 µl de dNTPs (2.0 mM); 2.0 µl de oligonucleótido Forward (5µM); 2.0 µL de oligonucleótido Reverse (5µM); y 0.5 µl de DNA genómico (1ng). En el caso del capilar de vidrio, fue sellado en ambos extremos mediante calor, utilizando la flama del mechero. Los capilares de vidrio y tubos eppendorf fueron colocados dentro de la cámara del termociclador Rapid cycler IT® con las condiciones de amplificación: programa "Link 36" [H45-C80-H46]: temperatura inicial de desnaturalización 94 °C durante 1 minuto [H45], seguido por una etapa de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, una temperatura de alineamiento de 61 °C durante 1 minuto, y una extensión a 72 °C por 2 minutos durante 35 ciclos con una velocidad de cambio de temperatura de 9.9 °C/Seg (slope 9.9°)[C80] y seguido de una extensión a 72 °C por 5 minutos [H46]. El análisis del producto de PCR se llevó a cabo en un gel de agarosa al 1.0% con exposición a bromuro de etidio (0.5 µg/ml).

Cuantificación del ensayo de inversión; Las cepas fueron crecidas en medio NB líquido a 37 °C con agitación constante (150 rpm) durante toda la noche. Al día siguiente, fueron diluidas en medio NB líquido en una proporción 1:50 (con excepción de la cepa silvestre “scavenger”) y colocadas en un baño a 37 °C con agitación constante (150rpm) hasta que alcanzaron la fase exponencial ($OD_{600nm}=0.4$), manteniéndolas en hielo-agua hasta que todas las cepas sincronizaran su crecimiento, en donde permanecieron 20 minutos para frenar su desarrollo. Previamente fueron espatuladas cajas para el ensayo de inversión (NCE 1X: 0.2% lactosa, 0.1mM histidina, 0.1 mM triptófano, 1mM $MgSO_4$, 30 μ g/ml X-gal [5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside]) con la cepa “scavenger” (100 μ l) para eliminar cualquier fuente de carbono. La cepa “scavenger” fue lavada en 3 ocasiones con 5ml de NCE 1X frío antes de colocarla en las cajas (NCE 50X [1L]: 323gr de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 197gr KH_2PO_4 , 175gr $NaNH_4HPO_4 \cdot 4 H_2O$). Las cajas fueron incubadas a 37°C hasta que se necesitaron. Adicionalmente, se realizaron diluciones (1×10^{-6}) en NaCl al 0.85% y se espatularon 100 μ l en cajas con medio NB, las cuales fueron incubadas a 37°C durante 24 horas para realizar cuenta viable. Una vez que todas las cepas alcanzaron la fase exponencial, fueron centrifugadas durante 10 minutos a 10,000rpm y 4°C; después fueron lavadas con 10ml de NCE 1X frío por 3 ocasiones. Posteriormente, fueron espatuladas en las cajas (por duplicado) para el ensayo de inversión (100 μ l) e incubadas durante 48 horas a 37 °C dentro de bolsas de plástico, adicionalmente se realizaron diluciones en NaCl 0.85% y se espatularon 100 μ l en cajas con medio NB, las cuales fueron incubadas a 37°C durante 24 horas para realizar cuanta viable.

Resultados

Extracción del DNA Y PCR. Se obtuvo una adecuada concentración de DNA para ser amplificado por PCR, en la cepa silvestre (207.55ng/ μ L) y mutante *fliK* (141.75ng/ μ L), mientras que la pureza tuvo una relación A_{260}/A_{280} de 1.9 y 1.96, respectivamente. La amplificación mediante PCR en capilares nos permitió confirmar la presencia del transposón en la cepa mutante *fliK* (producto de amplificación de 2999pb) (Figura 2 y 3). Como control positivo de amplificación usamos el gen *amyA* (2000pb) (Figura 1).

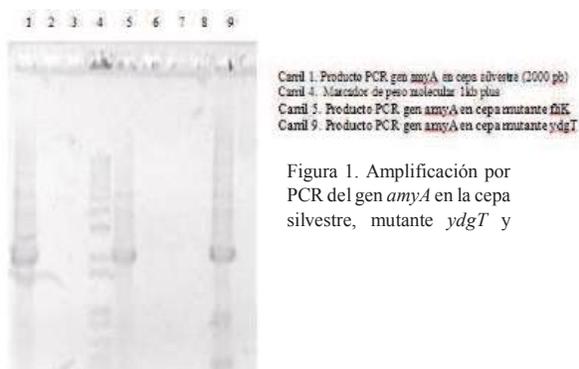


Figura 1. Amplificación por PCR del gen *amyA* en la cepa silvestre, mutante *ydgT* y

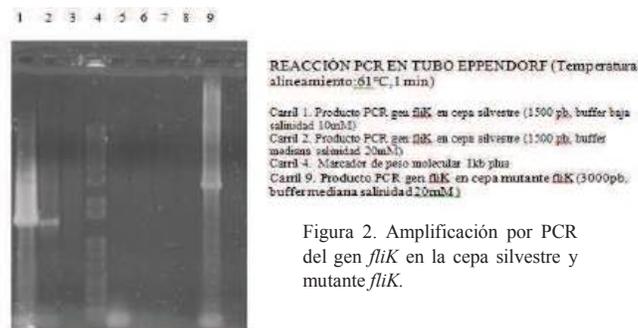


Figura 2. Amplificación por PCR del gen *fliK* en la cepa silvestre y mutante *fliK*.

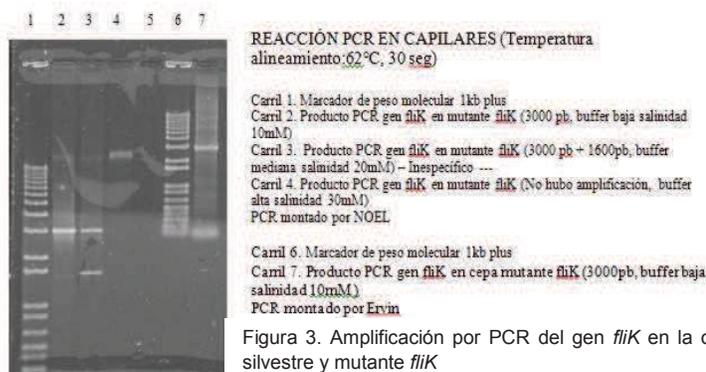


Figura 3. Amplificación por PCR del gen *fliK* en la cepa silvestre y mutante *fliK*

Cuantificación del ensayo de inversión. Se observó un aumento en los eventos de inversión en todas las cepas cuando son expuestas a los compuestos mutagénicos; sin embargo, la cepa *fliK* con MMS y *B[a]P* presenta el mayor número de eventos de inversión comparada con las otras cepas. La mezcla de *B[a]P* con S9 en la mutante *fliK* genera un mayor número de cepas lac⁺ estables (resultado de picar 50 colonias y contar las colonias lac⁺), lo cual quiere decir que se requiere de la activación metabólica del benzoapireno para generar un aumento de eventos recombinogénicos (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencias de inversión en ausencia y presencia de MMS, EMS, 9-AA Y B[a]P. Eventos en 1x10⁸ Cel/ml

CEPA	SIN MUTÁGENO	MMS (5.9µmol)	EMS (18.4µmol)	9-AA (20µg/ml)	B[a]P (0.25µg/ml)	
<i>Wt</i>	13 inestables	112 inestables	11,500 inestables	688 inestables		
<i>Δtus</i>	26,000	23,000	38,600	25,250		
<i>ΔyafE</i>	136	7157	21750	2826		
<i>Δ?</i>	75	8800	14,545	41,000	Sin S9 5798	Con S9 2377
<i>ΔfliK</i>	989	15,800	23,148	12,272	460 lac ⁺	523 lac ⁺

Discusión y conclusión

La sintenia es un fenómeno evolutivamente conservada entre los genomas de diferentes especies, tanto en procariontes como en eucariontes, lo cual sugiere la presencia de un mecanismo adicional que mantiene la estabilidad del genoma, distinto a los sistemas de reparación tradicionales. Utilizando como modelo la restricción del evento de inversión en el intervalo *his-trp* en *Salmonella typhimurium*, generamos cepas mutantes por inserción de elemento *Tn10d-cam* en diferentes partes del genoma, que hacen permisiva la inversión. En una mutante el transposón se encuentra en *yafE* y en otro candidato en *fliK* esto fue confirmado mediante PCR estandarizada en tubos eppendorf y en capilares de vidrio, observándose en esta última, una mejor amplificación, lo cual puede ser debido a la mejor conductividad térmica del vidrio, haciendo más estables las reacciones. Se evaluó el efecto de los mutágenos MMS, EMS, 9AA y B[a]P en las frecuencias de inversión y se observó que estos compuestos inducen un aumento en los eventos recombinogénicos y que la mutante *fliK* parecer ser un candidato adecuada para monitorear compuestos de distintas vías de acción. La mutante *fliK* es un candidato para ser implementado como modelo de mutaciones que implican eventos replicativos y recombinogénicos de gran escala, de los cuales se conoce poco. De ser así podría tener un amplio impacto en la evaluación de xenobioticos a los que se expone el ser humano y que producen enfermedades como el cáncer, sin embargo es necesario seguir caracterizando esta mutante.

Referencias.

- Azerad R. (1999). Microbial models for drug metabolism. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 63:169-218.
 Blanca Estela Hernández Guadarrama. (2010). Papel de los genes *yafE*, *ydgT* Y *fliK* en la estabilidad del genoma bacteriano. Tesis de maestría, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.
 Emanuel P, Scheinfeld N. (2007). A review of DNA repair and possible DNA-repair adjuvants and selected natural anti-oxidants. *Dermatol Online J.* 13; 13(3):10.
 Jesús Javier Espinosa Aguirre (1986) Método para la evaluación de mutaciones génicas en *Salmonella typhimurium*. Manual, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.
 Jiao H, Allinson SL, Walsh MJ, Hewitt R, Cole KJ, Phillips DH, Martin FL. (2007). Growth kinetics in MCF-7 cells modulate benzo[a]pyrene-induced CYP1A1 up-regulation. *Mutagenesis.* 22(2):111-6.
 Lawrence JG and Ochman H. (1998). Molecular archeology of the *Escherichia coli* genome. *Proc Natl Acad Sci USA,* 95:9413-7.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Establecimiento de las condiciones de hipoxia en una cámara de oxígeno controlado para simular un tumor sólido.

Mar Corazón Zúñiga Zurita (Becario programa AMC)
Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la U.A.G.

Dr. Juan Carlos Gallardo Pérez y Dr. Rafael Moreno Sánchez (Asesor)

jcgallardo@ciencias.unam.mx

Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología - Ignacio Chávez.

Resumen:

Durante la proliferación acelerada de un tumor sólido el crecimiento descontrolado ocasiona que las células se alejen de los vasos sanguíneos mermándolas de nutrientes y oxígeno. El establecimiento de zonas hipóxicas dentro de un tumor sólido induce cambios a nivel transcripcional, metabólico y de inducción a vías de señalización que le permiten a la célula adquirir un fenotipo agresivo, resistente a fármacos antineoplásicos, y metastásico lo cual constituye la principal causa de muerte en pacientes con cáncer. Por lo tanto, estudiar el comportamiento de las células tumorales bajo condiciones hipóxicas constituye un tópico de gran relevancia en la búsqueda de biomarcadores, blancos terapéuticos o evaluación de nuevas estrategias antitumorales. El laboratorio cuenta con una cámara de oxígeno controlado, con ella se determinó si es posible someter las células a condiciones de hipoxia y si estas pueden responder igual que un tumor sólido in vivo. Por tal motivo, células MCF-7 de cáncer de mama fueron sometidas a hipoxia (0.1% de oxígeno) durante 24 horas. Al final, se les extrajo proteína total y western blot se evaluó el contenido de HIF-1 α , GLUT-1, HKII, NDI. Además, el sobrenadante fue aislado y en él se evaluó la generación de lactato como indicador de glucólisis. Se obtuvo que MCF-7 hipóxica presentó una mayor cantidad de HIF-1 α , GLUT-1 y HKII, asimismo, la proteína mitocondrial NDI presentó una ligera disminución con respecto al control normóxico. Las células tumorales hipóxicas presentaron un incremento en la generación de lactato (1.58x10⁻⁷ nmol/célula más). Lo anterior correlaciona con lo observado en la literatura en tumores sólidos in vivo por lo que se concluye que se logró establecer un sistema que mimetiza las condiciones hipóxicas tumorales.

Palabras Clave: Cáncer, glucólisis e hipoxia.

Introducción:

Cáncer

En el 2012 la OMS reportó ocho millones de muertes atribuibles a algún tipo de cáncer (OMS, 2012). El cáncer es el resultado del aumento en los tejidos a causa de la multiplicación continua de células anormales que tienen la habilidad de invadir y destruir a otros tejidos (Gandur, 2011). Estas células cancerosas presentan alteraciones en su morfología y en sus procesos bioquímicos en comparación con células normales (Kirkpatrick, 1986 y Otto, 2001), esto a causa de su inmadurez, de cambios en el patrón enzimático o alteraciones en el ADN; uno de los cambios bioquímicos más importantes se suscita en el proceso de la glucólisis anaeróbica, ocasionando una menor dependencia del O₂ por parte de estas células cancerosas (Otto, 2001 y Gonzales, *et al.*, 2007).

Hipoxia y cáncer

El estado de hipoxia ocurre cuando el suministro de O₂ (dado por la irrigación sanguínea) es insuficiente, éste estado es regulado por el factor inducible por hipoxia 1 α (HIF-1 α) (Boticario *et al.*, 2010). Estudios en tejidos no tumorales con poco suministro de O₂ reportan concentraciones de 30 μ M de este gas, mientras que en condiciones de normoxia reflejan concentraciones de 30 a 90 μ M y en tumores alcanzan niveles menores a los 14 μ M (Vaupel, *et al.*, 2007 y Pacheco, 2012). En biopsias de cáncer, se ha observado una sobreexpresión de las

proteínas HIF-1 α , GLUT-1, LDH, HKI y HKII; y menor expresión en algunas proteínas de la fosforilación oxidativa comparándolas con biopsias no tumorales (Pacheco, 2012). HIF-1 α tiene como función transcribir genes involucrados en la vía glucolítica (Marín-Hernández, *et al.*, 2009).

Glucólisis y cáncer

La glucólisis funciona como un mecanismo de equilibrio cuando la fosforilación oxidativa se encuentra deficiente (proceso frecuente en las células cancerígenas). La glucólisis puede realizarse en presencia de O₂, generando la metabolización del piruvato a acetil-CoA o en anaerobiosis, donde el piruvato produce lactato mediante la catalización de lactato deshidrogenasa (LDH) (Gonzales, *et al.*, 2007). Diversos estudios han reportado que los tumores malignos poseen la capacidad de metabolizar la glucosa y producir lactato a una velocidad mayor que en las células normales (Ramanathan, 2005).

El aumento de la tasa glicolítica puede deberse al incremento en la expresión de genes que codifican para enzimas de la glicólisis, como hexokinasa (HK) y fosfofructokinasa-I (PFK-I), aldolasa (ALDOA), lactato deshidrogenada (LDHA), fosfofructoquinasa (PFKL), fosfoglicerato quinasa (PFK1) y piruvato quinasa (PKM), además del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el transportador de glucosa (GLUT-1) provocado por la activación de factores de transcripción, oncogenes o por HIF-1 α (Gonzales, *et al.*, 2007).

Métodos para generar hipoxia

Existen distintos métodos para establecer condiciones de hipoxia en las células cancerosas, entre los que destacan (Cotte y Arvelo, 2009):

- Cámaras presurizadas y Cambios en la presión del aire. Consiste en el tránsito de condiciones de presión en determinada altitud en un entorno determinado, logrando este estado cuando se disminuye la presión en un espacio cerrado, donde el grado de hipoxia es proporcional al cambio en la presión
- Dilución del aire con nitrógeno. Para este sistema se emplean bombas de nitrógeno con lo que se crea una mezcla que compite con el oxígeno.
- Sistemas de extracción del oxígeno del aire. Se efectúa mediante membranas que permiten el acceso de las moléculas de oxígeno y que excluyen a las de nitrógeno, generando ambientes hipoxicos.
- Hipoxia-isquemia por Cloruro de Cobalto (CoCl₂). El CoCl₂ tiene la capacidad de interferir con la función del hierro en el grupo Hemos de la Hb y del citocromo c, además el CoCl₂ puede activar directamente a HIF-1 α , lo que desencadena en las células una respuesta adaptativa similar a la hipoxia real.

Objetivo: Establecer las condiciones de hipoxia en una cámara de oxígeno controlado en células tumorales *in vitro* que mimeticen las condiciones del tumor sólido *in vivo*.

Objetivos particulares

- Estandarizar las condiciones del funcionamiento y mantenimiento de la cámara de control de oxígeno durante 24 horas.
- Medir la expresión HIF-1 α en cultivos normóxicos e hipóxicos.
- Medir las proteínas glucolíticas GLUT-1, HKII y la proteína mitocondrial ND1.
- Medir la producción de ácido láctico como sinónimo de glucólisis.

Materiales y Métodos:

Línea Celular

La línea celular MCF7 (cáncer de mama) fue proporcionada por el departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología-Ignacio Chávez, las MCF7 se cultivaron en placas de 65 x 15 mm con Medio de Dulbecco-MEM suplementado con suero bovino fetal al 10% a una concentración 25mM de glucosa y se incubaron a 37 °C hasta alcanzar una confluencia mayor al 80% (Gibco, Rockville, EE.UU.).

Cultivos en hipoxia

La cámara para hipoxia se calibró dos veces a 21% de O₂ (nivel normal), regulando con nitrógeno (hasta llegar a zero), para después ajustar a 1.3 y 1.9 (SP1 y SP2, respectivamente) que fueron monitorizados a través de sensores. Se controló el % de O₂ a través de tanques que contenían 94% de N, 5% de CO₂ y 1% de O₂ (Gallardo-Pérez, INC). Como control también se realizó este procedimiento en una minicámara de hipoxia, que después de cerrarla le fue suministrado aire con el mismo contenido de N, CO₂ y O₂ como en la cámara de hipoxia por 15 minutos, para después cesar el suministro de gases y cerrar. Ambas condiciones se incubaron a 37 °C por 24 horas. Las células control se siguieron cultivando en estados de normoxia (Departamento de Bioquímica del INC).

Ensayos de viabilidad

La viabilidad de las células MCF7 cultivadas en condiciones de normoxia e hipoxia se realizó mediante azul de tripano, leyéndose al minuto de incubación en la cámara de Neubauer.

Western blot

Las fracciones celulares obtenidas de los cultivos de normoxia e hipoxia se disolvieron con RIPA (PBS 1 pH 7.2, 1% IGEPAL de NP40, 0.1% de SDS y 0.05% de desoxicolato de sodio) y en inhibidores de proteasas 5mM (Roche, Mannheim, Alemania). Las proteínas extraídas se resuspendieron en buffer de carga con 5% de β -mercaptoetanol para realizar electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% (Gallardo-Pérez, *et al.*, 2014). La transferencia electroforética se realizó a membranas PVDF (BioRad, Hercules, CA, EE.UU.), seguido por un boqueo y se incubó a 4 °C durante toda la noche con el anticuerpo primario diluido 1:500 para HIF-1 α , GLUT-1, HKII, ND1 y Tubulina (Santa Cruz de Biotecnología, Santa Cruz California, EE.UU.); se lavó y se incubó por una hora con anticuerpo secundario acoplado a la peroxidasa de rábano picante (Santa Cruz). El revelado fue detectado por un método de químio-luminiscencia usando ECL-Plus (Amersham Bioscience, Little Chalfont, Buckinghamshire Reino Unido).

Lactato extracelular

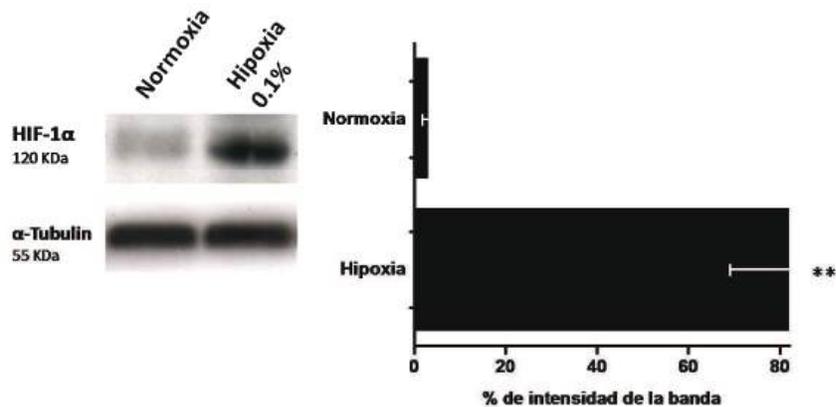
El contenido de L-lactato excretado por las células cultivadas en normoxia e hipoxia durante 24 horas se determinó mediante espectrofotometría a 340 nm, utilizando NAD⁺ [100 mM], lactato deshidrogenasa y medio Hidracina-Glicina a pH 9 (Marín-Hernández, *et al.*, 2011). El L-lactato extracelular se corrigió con el número de células contenidas en el medio de cada condición experimental.

Resultados:

Se trabajó con la línea celular MCF7 de cáncer de mama bajo condiciones de normoxia e hipoxia, esta última empleando una cámara de hipoxia controlada mediante sensores; empleando tanques con una mezcla de 94% de N, 5% de CO₂ y 1% de O₂, incubándose a 37 °C por 24 horas.

Después de cultivar las células MCF7 en estados de normoxia e hipoxia, se analizó la expresión de HIF-1 α (figura 1) mediante inmunoensayo (Western blot), dado que esta proteína es la principal reguladora del bastimento de O₂ (Boticario *et al.*, 2010). Observando mayor intensidad en la banda de HIF-1 α correspondiente a la muestra de hipoxia (81%) que en la condición de normoxia (1.2%).

CONTENIDO DE HIF-1 α EN CÉLULAS MCF-7 EXPUESTAS DURANTE 24 HORAS A HIPOXIA



****P<0.01 vs Normoxia**

Figura 1. Inmunoensayo (Western blot) de HIF-1 α en células MCF7 bajo condiciones de normoxia e hipoxia durante 24 horas.

Mediante Western blot también se buscó la expresión GLUT-1, HKII por ser proteínas con una actividad importante en la vía glucolítica y DN1 (figura 2) que es una enzima relevante en la cadena de transporte de electrones mitocondrial. (Marín-Hernández, *et al.*, 2009). Los resultados obtenidos muestran mayor expresión de GLUT-1 (156%) y HKII (124%) en las células cultivadas a 0.1% de O₂, en cambio, ND1 (17%) se encuentra más expresado en las células que crecieron en condiciones de normoxia.

CONTENIDO DE PROTEÍNAS GLUCOLÍTICAS Y MITOCONDRIAL EN CÉLULAS MCF-7 EXPUESTAS DURANTE 24 HORAS A HIPOXIA

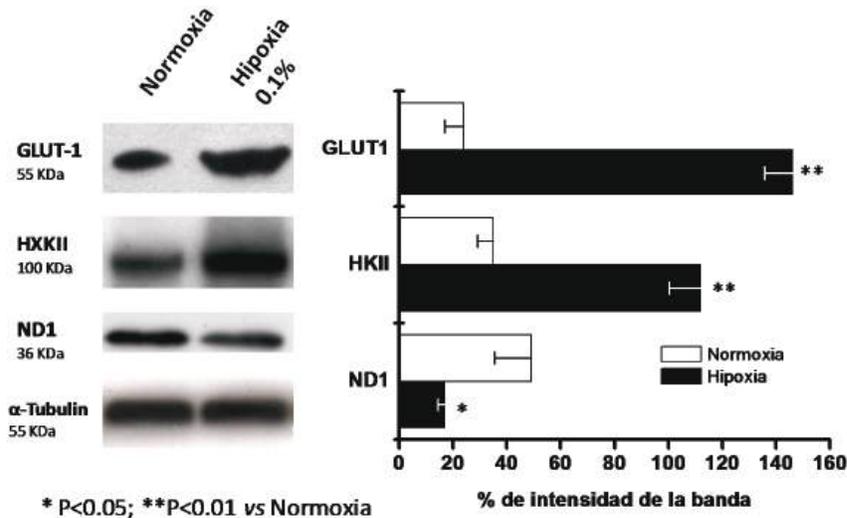


Figura 2. Inmunoensayo (Western blot) de GLUT-1, HKII Y ND1 en células MCF7 bajo condiciones de normoxia e hipoxia durante 24 horas.

Se midió el ácido láctico (tabla 1) excretado en el medio de las células MCF7 cultivadas en normoxia e hipoxia durante 24 horas, mediante espectrofotometría a una longitud de 340 nm, corrigiendo con respecto al número de células recuperadas de cada medio; se realizó esta medición como sinónimo de glucólisis, tomando en cuenta que las células metabolizan glucosa a piruvato y en ausencia de oxígeno, producen lactato (Gonzalez, *et al.*, 2007).

Tabla 1. Niveles de ácido láctico de las células MCF7 cultivadas en estados de normoxia e hipoxia en una cámara de O₂ controlado durante 24 horas.

Variable	Ácido láctico (nmol/ célula)
Normoxia	2.80 x 10 ⁻⁷
Hipoxia 0.1%	4.38 x 10 ⁻⁷

*p < 0.05 vs normoxia

Discusión y conclusiones:

HIF-1α se sobre expresa en estados de hipoxia (0.1% O₂).

En correlación con la teoría de que la enzima HIF-1α promueve su expresión en estados de hipoxia (principalmente) y en tumores agresivos (Moreno-Sánchez, *et al.*, 2007). Se obtuvo un 69% de mayor intensidad en las células cultivadas con 0.1% de O₂; resultado similar (a las 8 horas de incubación) al reportado por Rodríguez-Enríquez, *et al.*, en el 2010, donde sometieron cultivos celulares de MCF7 a condiciones de normoxia e hipoxia durante 8 y 24 horas y a los resultados de

tesis de Pacheco en el 2012, quien observó 4300% de mayor intensidad en biopsias de cáncer de mama con respecto a biopsias no tumorales.

Las condiciones de hipoxia favorecen a las enzimas glucolíticas, pero no a las enzimas mitocondriales.

HIF-1 α mejora la expresión de proteínas glucolíticas como HK, PFK-I, GLUT-1, ALDOA, entre otras (Gonzales, *et al.*, 2007). En este estudio, tanto GLUT-1 como HKII mostraron en las células MCF7 cultivadas en hipoxia un incremento en su expresión de 131% y 86%, respectivamente; éstos hallazgos son semejantes a los publicados por Maher, *et al.*, en el 2007 que también reportaron mayor expresión de GLUT-1 y HKII de forma exponencial con respecto al tiempo de exposición a hipoxia (4, 24 y 48 horas), ellos además agregaron un RNAi (RNA de interferencia) con lo que obtuvieron un efecto contrario con respecto al tiempo. Asimismo en biopsias de cáncer de mama hubo diferencia aunque no estadísticamente significativa en el caso de GLUT-1, mientras que HKII no se expresó en las biopsias no tumorales pero sí en las de cáncer (Pacheco, 2012). La expresión de ND1 es desfavorable en condiciones de hipoxia, puesto que es una proteína del complejo I de la cadena transportadora de electrones por lo que requiere de [O₂], obteniéndose en este estudio, 33% mayor intensidad de ND1 en las células cultivadas en normoxia; mismo efecto ocurre en los datos publicados por Rodríguez-Enríquez, *et al.*, en el 2010, cuando sus células MCF7 son cultivadas por 8 horas en condiciones de normoxia e hipoxia.

Mayor actividad glucolítica dado por la producción de ácido láctico en las células MCF7 cultivadas en hipoxia.

Cuando la glucosa es degradada a piruvato por medio de LDH y las células se encuentran en bajas [O₂] (como ocurre en los tumores), se acciona la vía del ácido láctico y con esto aumenta la tasa glicolítica con el objetivo de obtener moléculas de ATP; este es el efecto (que se cree), está ocurriendo como lo muestran nuestros resultados, ya que las células MCF7 que crecieron en condiciones de hipoxia presentan 1.58x10⁻⁷ nmol/célula más producción de ácido láctico en comparación con la producción obtenida del medio procedente de las células en normoxia. Resultados del grupo Maher, *et al.*, en el 2007 mostraron mayor actividad glucolítica en sus células control que en las que tenían un RNAi para HIF-1 α , este efecto fue observado a pesar del suministro de un inhibidor de glucólisis a una concentración de 0.25 y 0.5 mg/ml.

HIF-1 α puede regular la expresión de GLUT-1, HKII y del ácido láctico generando niveles más altos en las células cultivadas en hipoxia (0.1% O₂), mientras que ND1 actúa de forma contraria por pertenecer a una vía que requiere [O₂], por lo que disminuye en cultivos hipoxicos. Lo anterior correlaciona con lo observado en la literatura acerca de los tumores sólidos *in vivo* por lo que se concluye que se logró establecer un sistema que mimetiza las condiciones hipoxicas tumorales.

Agradecimientos:

El presente trabajo fue elaborado gracias a la beca económica otorgada por la Academia Mexicana de Ciencias; a la autorización del proyecto, facilidades del material y equipo dado por el departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología - Ignacio Chávez.

Referencias:

- Boticario Boticario Consuelo y Cascales Angosto María (2010). Hipoxia y cáncer. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 76 (3): 379 - 408.

- Cotte Carlos y Arvelo Francisco (2009). Hipoxia en la malignidad del cáncer. *Invest Clin* 50(4): 529 - 546.
- Gallardo-Pérez Juan Carlos, Rivero-Segura Nadia Alejandra, Marín-Hernández Alvaro, Moreno-Sánchez Rafael, Rodríguez-Enríquez Sara. (2014). GPI/AMF inhibition blocks the development of the metastatic phenotype of mature multi-cellular tumor spheroids. *EMT Biochimica et Biophysica Acta* 1843; 1043 - 1053.
- Gandur Natalia (2011). Manual Enfermería oncología. Instituto Nacional del Cáncer. Argentina. Ministerio Nacional Salud, Presidencia de la Nación. Editor Goldman Ariana. 72 p.
- Gonzales Rengifo Gustavo F., Gonzales Castañeda Cynthia, Espinosa Guerinoni Diego, Rojas Tubeh Cristina (2007). Overexpression of genes of glycolytic pathway enzymes in cancer cells. *Acta Medica Peruana* 24(3).
- Kirkpatrick CS. (1986). Nurse is guide to cancer care. Totowa, NJ Rowman.
- Maher Johnathan C., Wangpaichitr Medhi, Savaraj Niramol, Kurtoglu Metin, and Lampidis Theodore J. (2007). Hypoxia-inducible factor-1 confers resistance to the glycolytic inhibitor 2-deoxy-D-glucose. *American Association for Cancer Research. Mol Cancer*; 6 (2).
- Marín-Hernández Alvaro¹, Gallardo-Pérez Juan C.¹, Ralph Stephen J., Rodríguez-Enríquez Sara¹ and Rafael Moreno-Sánchez¹. (2009). HIF-1 α modulates energy metabolism in cancer cells by modifying the status of glycolytic enzymes. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 9 (9) 1084-1101.
- Organización Mundial de la Salud (2012), Cáncer. Consultado el 25 de agosto de 2014 en: <http://www.who.int/cancer/about/facts/es/>
- Otto Shirley E. (2001). Enfermería Oncológica. Madrid, Harcourt/Océano, 421p.
- Pacheco Velázquez S. (2012). *Evaluación del patrón de expresión de HIF-1 α y genes glucolíticos en biopsias de cáncer de mama*. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México, 10-57 p.
- Rafael Moreno-Sánchez Rafael, Rodríguez-Enríquez Sara, Marín-Hernández Álvaro and Saavedra Emma (2007). Energy metabolism in tumor cells. *FEBS Journal The Authors Journal compilation* 274 1393–1418.
- Ramanathan A., Wang C., Shreiber SL. (2005). Perturbational profiling of a cell-line model of tumorigenesis by using metabolic measurements. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*; 102:5992-7.
- Rodriguez-Enriquez Sara, Carreño-Fuentes Liliana, Gallardo-Pérez Juan Carlos, Saavedra Emma, Hector Quezadaa, Alicia Vega, Alvaro Marin-Hernandez Alvaro, Olin-Sandovala, Viridiana, Torres-Marquez M. Eugenia, Moreno-Sancheza Rafael (2010). Oxidative phosphorylation is impaired by prolonged hypoxia in breast and possibly in cervix carcinoma. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 24; 1744–1751.
- Vaupel P., Höckel M., Mayer A. (2007). Detección and caracterización of tumor hipoxia using pO₂ histography. *Antioxid Redox Signal* 8:1221 – 1235.
- Wu Danli y Yotnda Patricia (2011). Induction and Testing of Hypoxia in Cell Culture. *J. Vis. Exp.* (54), e2899, doi: 10.3791/2899.



Establecimiento del cultivo celular de la especie *Carica papaya L* (papaya) en medio sólido.

José Manuel Sandoval Moreno (Becario Programa AMC.)

Josehp_rayos_01@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero

Anabel Ortiz Caltempa (Asesor)

Centro de Investigación en Biotecnología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

anabel@uaem.mx

Resumen

El desarrollo de los callos de Carica papaya L. en medios específicos sirve para obtener un desarrollo óptimo y eficaz para el establecimiento del crecimiento celular, con el objetivo de obtener un crecimiento homogéneo, estable y con una velocidad de crecimiento celular. Así mismo para incrementar los rendimientos de producción de los metabolitos secundarios específicos que se requieren, además de que son cultivos controlados libres de cualquier patógeno. El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de plantas medicinales del Centro de Investigación en Biotecnología de la UAEM con el objetivo de este trabajo de investigación fue el establecer un medio de cultivo que permita obtener una mayor velocidad de crecimiento de callos de la especie Carica papaya L., utilizando diferentes medios de cultivo y reguladores de crecimiento vegetal, donde se utilizaron medios de cultivo sólidos específico para el establecimiento celular de Carica papaya L. utilizando los medios Murashige y Skoog (MS) y Gamborg (B5) en concentraciones de 100 y 50%, adicionando sacarosa (3%) como fuente de carbono, como agente gelificante fitagel de SIGMA® agregando 2.7 g/l. Las fitohormonas que se utilizaron fueron el 2-4D y Cinetina, y otros experimentos en ausencia de fitohormonas. Los mejores resultados se obtuvieron en el medio MS sin fitohormonas a luz constante con un crecimiento total de 5 cm a los 26 días de la siembra de los callos, observándose la formación de callos diferenciados de tipo friable de coloración amarillo-verdoso. Debido a la importancia etnomédica y el potencial farmacológico de Carica papaya L. en el presente trabajo de investigación se estableció el protocolo del cultivo de callos de esta especie que ha sido modificada genéticamente (dato reservados de investigación), y se compararon preliminarmente con otros medios de cultivo presentes en callos, plántulas germinadas in vitro y plantas silvestres

Palabras claves: Cultivo in vitro, *Carica papaya L.*, fitohormonas.

Introducción

México es considerado uno de los países “megadiversos”, ya que forma parte del selecto grupo de naciones poseedoras de la mayor cantidad y diversidad de animales y plantas, casi el 70% de la diversidad mundial de especies; llegando a ocupar el quinto lugar entre los países con mayor diversidad (Llorente-Bousquets, 2008). México es uno de los principales productores de fruta del mundo y ocupa el primer lugar en exportación de papaya (SAGARPA, 2012). En la planta completa se han reportado los siguientes compuestos químicos: Enzimas proteolíticas; papaína, quimopapaína; Flavoproteínas; Carbohidratos; Vitaminas; Compuestos volátiles; Alcaloides:

carpaína, isoquinólidos, carposido, dehidrocarpaína I y II, pseudocarpaína; Aminoácidos: triptófano, tirosina, cisteína; indol glucosinolato. En medicina tradicional: se emplea como digestivo, anticoagulante, béquico, vermífugo. Las raíces se utilizan como diurético, las hojas y las semillas antihelmíntica, antimalárico y antiasmático (Fonnegra 2007). El uso de las técnicas del cultivo de tejidos vegetales *in vitro* representa una herramienta eficiente para propagar genotipos élite mediante la organogénesis directa. Además, para que las plantas obtenidas estén libres de enfermedades (Hernández 2013). El Cultivo de tejidos vegetales es una herramienta invaluable para la solución de problemas básicos y aplicados en la biología vegetal, ya que por una parte ofrece una serie de sistemas modelo ideales para la investigación fisiológica, bioquímica, genética y estructural, y por otro lado tiene una aplicación práctica en la clonación, conservación y manipulación *in vitro* de cualquier material vegetal (Pérez, 1999). Los avances biotecnológicos marcan nuevas pautas en las investigaciones y en la búsqueda de nuevas vías de propagación acelerada de diversos cultivos, además, constituyen una herramienta más de la cual es posible obtener mayor provecho, partiendo de la obtención de callos potencialmente embriogénicos. Los callos de acuerdo con sus características morfológicas y citológicas, pueden ser empleados para buscar diferencias en los patrones de expresión en la formación de embriones somáticos, como una vía de multiplicación acelerada de las especies vegetales (González 2011). Un callo es básicamente un tejido tumoral, más o menos organizado, que generalmente surge sobre heridas de órganos y tejidos diferenciados. Al proceso en el cual se inicia la formación del callo es denominado inducción, para ello es necesaria una desdiferenciación celular. La desdiferenciación celular juega un papel muy importante en las células adultas, ya que estas son capaces, de forma temporal, de pasar de su forma adulta a su forma juvenil; estas células (rejuvenecidas) tienen la capacidad en circunstancias especiales, de regenerar órganos y/o embriones. Para la fase de inducción se puede utilizar cualquier tipo de órgano (raíz, tallo, hoja, flor) o tejido, además del suministro de reguladores exógenos, los cuales dependen en gran manera del genotipo y de su contenido en hormonas endógenas. Otros factores que influyen para la iniciación de callos son: la composición del medio nutritivo, factores físicos del crecimiento (luz y temperatura, entre otros) (Pierik, 1990). En el presente trabajo se plantea establecer cultivos de callos de *Carica papaya L.*, el material se obtuvo de embriones cigóticos obtenidos de semillas de *Carica papaya L.* Inicialmente se obtuvieron clonas transgénicas que expresan 3 péptidos de cisticercos las cuales se han mantenido por subcultivos, pero su velocidad de crecimiento es muy lento, debido a que el medio de cultivo no es el adecuado. Por lo que se pretende establecer un medio de cultivo específico para este tipo de cultivo de *Carica papaya L.*

Metodología

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de plantas medicinales del Centro de Investigación en Biotecnología de la UAEM. Los callos de *Carica papaya L.* fueron facilitados por parte del personal del laboratorio, los cuales ya contaban con una esterilización total.

Elaboración de Medios de cultivo (MS y B5); para los experimentos de cultivo *in vitro* de *Carica papaya L.* se utilizó como base las sales de Murashige y Skoog (MS) y Gamborg (B5), en concentraciones de 100 y 50 % de sus macro y micro nutrientes, adicionado con sacarosa (3%) como fuente de carbono, vitaminas y mio-inositol (0.1 g/l). Como agente gelificante se agregó 2.7 g/l de fitagel de SIGMA; el pH se ajustó a 5.7 ± 0.1 , y se esterilizó a 121 °C y 20 lb de presión durante 15 minutos. Medios de cultivo con fitorreguladores:

Murashige y Skoog (MS), 2-4D y cinetina (2 mg/l) respectivamente, para Gamborg (B5) 2-4D y cinetina (2 mg/l respectivamente). *Subcultivo de callos de Carica papaya L.*; los callos de 30 días se subcultivaron con las mismas concentraciones y combinaciones de la fase de inducción por quintuplicado. Las condiciones de incubación fueron las mismas descritas en experimentos anteriores, ambos medios fueron colocados en condiciones de obscuridad y fotoperiodo. Después de 5 días se registró el tamaño del callo, el porcentaje de respuesta, la descripción del callo.

Resultados

En los tratamientos donde se empleó el medio de cultivo B5 en general no se observó ninguna respuesta de crecimiento, como se observa en la figura 1. Durante todo el tiempo que se realizaron los experimentos el callo presentó un ligero incremento en el tamaño sin llegar a la formación de callo friable, después de este tiempo, el callo presentó fenolización ocasionando con esto un crecimiento muy lento.



Figura. 1 Cultivo en medio B5.

El tratamiento que tuvo menor efecto fue el medio MS con fitohormonas a luz constante con un crecimiento total de 0.4cm, al igual que el Medio B5 con fitohormonas en obscuridad con un crecimiento total de 0.5cm.

De los medios B5, el que tuvo una respuesta mayor al crecimiento de los callos fue el medio B5 sin fitohormonas a luz constante, con un crecimiento total de 3.5cm.

Inducción de callos de en medio de cultivo MS sin fitohormonas/luz constante; en todos los tratamientos empleados, se observó la formación de callos desdiferenciados de tipo friable, de coloración amarillo verdoso como se observa en la figura 2, en la mayoría de los tratamientos no se presentó fenolización, a partir del día 19 de exposición en el medio.



Figura. 2 Cultivo en medio MS sin fitohormonas a luz constante.

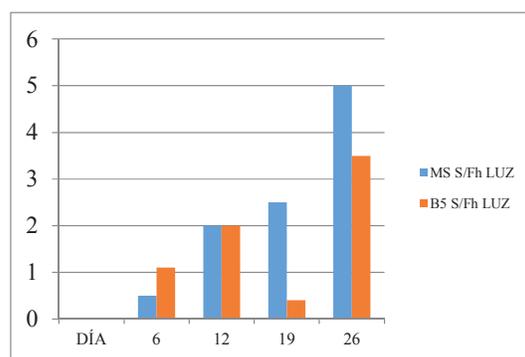


Tabla 1 Comparación de crecimiento entre los Medios MS y B5 sin fitohormonas en luz.

Discusión

Debido a la importancia etnomédica y el potencial farmacológico de *Carica papaya L.* en el presente trabajo de investigación se estableció el protocolo del cultivo de callos de esta especie que ha sido modificada genéticamente (dato reservados de investigación), y se compararon preliminarmente con otros medios de cultivo presentes en callos, plántulas germinadas *in vitro* y plantas silvestres.

Inducción de callos de Carica papaya L.; en los tratamientos donde se emplearon los fitorreguladores, la respuesta de inducción de callo fue nula. Después de 26 días del sembrado sólo se observó la fenolización sin llegar a la formación de callo friable ni a incrementar su crecimiento celular., al principio se pensó que el uso de las fitohormonas sería clave para el crecimiento de los callos. En contraparte, se observó que al utilizar una combinación de medio de cultivo sin fitorreguladores y en presencia de luz constante la respuesta a la formación de callo fue favorable, obteniéndose en los callos una apariencia friable. Se obtuvo un callo de consistencia compacta con la formación de un callo de tipo friable de color verde-amarillo con coloración blanca en la superficie, siendo el medio MS el que dio una mejor resultado.

Conclusiones

Se estableció que el medio de cultivo MS es el mejor tratamiento para la producción de callos friables de la especie *Carica papaya L.* (Papaya), favoreciendo el crecimiento celular. Las condiciones de luz constante favoreció la producción de callos de la especie *Carica papaya L.* (Papaya). La combinación de auxina y citocinina (2-4D y Cinetina) no fue necesaria para acelerar el crecimiento celular y la producción de callo.

Agradecimientos

Primero que nada le doy las gracias a la ACADEMIA MEXICANA DE CIENCIAS (AMC) por la beca otorgada para realizar el verano de investigación, a la Doctora Anabel Ortiz Caltempa por haber aceptado mi solicitud y poder realizar mi verano y formar parte de su proyecto, al igual al Centro de Investigación en

Biocología (CEIB) perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) por todo el material otorgado que se utilizó y las facilidades de ocupar el equipo necesario para el desarrollo de este proyecto, por último a los compañeros de laboratorio, Pablo, Mac, Mariana y Rocío por las explicaciones y enseñanzas de técnicas que utilizan en sus trabajos que me servirán en futuras investigaciones.

Referencias

- Arias Mario, Aguirre Ana, Angarita Mónica, Montoya Carolina, Restrepo Juan.** (2009). Engineering aspects of the in vitro plant cell culture for the production of secondary metabolites. *Dyna*, Año 76, 157, Medellín, pp. 109 - 121.
- Bermúdez Guzmán, Manuel de Jesús; Valadez Ramírez, Pedro; Buenrostro Nava, Marco Tulio; Manzo Sánchez, Gilberto; Guzmán González, Salvador.** (2013). Inducción *in vitro* de raíces de *Carica papaya* mediante *Agrobacterium rhizogenes* y ácido 3-indolbutírico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 1055-1065.
- Díaz Espinoza, J. A.** (2007). Estudio exploratorio para el establecimiento del cultivo in vitro de especies de helechos silvestres con potencial ornamental. Tesis, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. IPN.
- Estrada-Luna Andrés Adolfo; Hernández-Meneses Eleodoro; López-Peralta María Cristina Guadalupe.** (2013). Callogenesis de *Heliconia collinsiana* GRIGGS *in vitro*: establecimiento, inducción y proliferación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.4 Núm.8 12 de noviembre - 31 de diciembre, 2013 p. 1175-1186
- Fonegra R. & Jiménez S.** (2007). Plantas medicinales en Colombia. Colombia. 2ª edición Editorial Universidad de Antioquia. Pp. 202-204.
- George E. F., Hall M. A., Geert-Jan De K.** (2008). Plant propagation by Tissue Culture. 3rd Edition. Edit. Springer. Pp. 335.



Polimorfismos del GENcagADE *Helicobacter pylori* aislados de pacientes pediátricos reinfectados

Ángel Samuel González Leyva (Becario del programa AMC)

sammy_16g@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la U.A.Gro.

Dra. Norma Velázquez Guadarrama (Asesor)

normave@yahoo.com

Profesora-Investigadora del laboratorio de Infectología en el Hospital Infantil de México
Federico Gómez,

Colaboración: M. en C. Sandra Mendoza Elizalde, Q.B.P. Ana Caren Cortés Márquez

Resumen

Helicobacter pylori es una bacteria que coloniza la mucosa gástrica y causa diversos trastornos gastrointestinales. La proteína CagA codificada por el gen *cagA*, contiene una región 3' carboxilo terminal altamente polimórfica con varias secuencias repetidas, cada una de las cuales tiene un motivo EPIYA. CagA es introducida en la célula epitelial mediante un sistema de secreción tipo IV (TSS4). Dentro de la célula, es fosforilada en los motivos e inducerearreglos en el citoesqueleto. El objetivo de este estudio fue identificar tipo y número de motivos EPIYA en cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes pediátricos recurrentes a la infección. Se incluyeron 17 aislamientos clínicos de *H. pylori* de dos pacientes pediátricos con recurrencia a la infección. Mediante PCR se amplificó la región 3' *cagA* de *H. pylori*, se secuenció. El análisis de secuenciación mostró diversidad en los motivos EPIYA, el paciente A presentó el patrón EPIYA-ABCC. Por otra parte, el paciente B tuvo los patrones EPIYA-ABC. Se concluye que el paciente A está colonizado por nuevas cepas lo que corresponde a una reinfección y el paciente B la infección fue dada por una cepa que no se ha erradicado.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, *cagA*, EPIYA.

Introducción

La mayoría de las infecciones bacterianas fueron descubiertas a principios del siglo XX. En 1981 los investigadores australianos Barry Marshall y Robin Warren inician un estudio prospectivo en pacientes que acuden a consulta para ser sometidos a endoscopia oral. El trabajo realizado en el Royal Perth Hospital de Australia, logran observar bacterias helicoidales en la superficie de la mucosa gástrica en 98% pacientes con gastritis crónica y 80% pacientes con úlcera gástrica, utilizando la tinción de plata de Warthin-Starry (Agudo, 2010).

Pasaron más de 20 años para sugerir la posibilidad de que la enfermedad ulcerosa se debía a una bacteria. En 1975 Steer y Colin Jones observaron por microscopía electrónica la existencia de microorganismos helicoidales en la mucosa gástrica de pacientes con úlcera gástrica (Agudo, 2010).

Marshall y Warren después de varios intentos fallidos, en 1982 por primera vez logran cultivar a la bacteria helicoidal a partir de biopsias de antro gástrico utilizando la metodología descrita para el aislamiento de *Campylobacter*spp, (Agudo, 2010), posteriormente en 1989 recibe el nombre definitivo de *Helicobacter pylori*.

A partir de experimentos con voluntarios, Marshall y Morris demostraron que las bacterias helicoidales pueden colonizar el estómago humano induciendo inflamación de la mucosa gástrica. Estos datos permitieron realizar nuevas investigaciones, que mostraron que la colonización gástrica con *H. pylori* puede dar lugar a una variedad de trastornos gastrointestinales, como la gastritis crónica, úlcera péptica, linfoma gástrico asociado a mucosas (Kusters *et al.*, 2006).

En reconocimiento por dicho descubrimiento a Marshall y Warren se les otorgó el premio Nobel de Medicina en el 2005 (Rajindrajith, *et al.*, 2009).

Helicobacter pylori

El género *Helicobacter* fue propuesto por primera vez en 1989, el cual incluía las especies *H. pylori* y *H. mustelae*, correspondientes a los primeros aislamientos de bacterias de mucosa gástrica humana y de hurones, respectivamente. Una consecuente revisión de géneros incluyó a *H. cinaedi* y *H. fennelliae*, las cuales se incluían dentro del género *Campylobacter* (Agudo, 2010)

En la actualidad se reconocen 20 especies de *Helicobacter* que se subdividen en dos linajes, las especies de *Helicobacter* gástricos y especies de *Helicobacter* entero hepáticos; poseen, un alto nivel de órgano-especificidad, es decir, que los *Helicobacter* gástricos no son capaces de colonizar intestino e hígado y viceversa (Kusters, *et al.*, 2006).

H. pylori es una bacteria Gram negativa en forma de espiral o sacacorchos, mide 2 a 4 μm de largo y 0.5 a 1 μm de ancho, presenta de cuatro a seis flagelos unipolares de aproximadamente 3 μm de largo, es microaerofílica y se observa con terminales redondeadas en biopsias gástricas. Los flagelos le confieren un movimiento rápido en soluciones viscosas como la capa de moco que recubre las células del epitelio gástrico (Kusters, *et al.*, 2006).

Citotoxina asociada al Gen A (*cagA*)

El gen *cagA* (cytotoxin-associated-gene) forma parte *cag*-PAI, adquirida por transferencia horizontal, se integra al cromosoma bacteriano mediante recombinación homóloga (Agudo, 2010). Está presente en aproximadamente el 50-70% de las cepas de *H. pylori*, por lo que se considera un marcador de la presencia genómica de PAI. Este gen codifica para una proteína de aproximadamente 140 KDa la proteína CagA, la cual es altamente inmunogénica (Hatakeyama, 2011).

El gen *cagA* contiene una región 5' terminal que es altamente conservada y una región 3' terminal la cual es altamente polimórfica y es importante para la actividad biológica de la proteína CagA en las células epiteliales gástricas. La región variable 3' contiene varias secuencias repetidas, cada una de las cuales contiene un motivo EPIYA (Hatakeyama, 2011).

CagA es fosforilada por la familia de las Srcinasas en los residuos de tirosinas del motivo Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA), el cual está presente en múltiples números en la región polimórfica COOH-terminal de la proteína (EPIYA-región repetida) (Hatakeyama 2004). La mayoría de las proteínas CagA contienen tres motivos EPIYA aunque el número puede variar de 1 a 7 entre tipos de CagA (Hatakeyama, 2011).

Puede haber variación en el número de fosforilaciones en el motivo EPIYA, lo cual está directamente relacionado con el número de repeticiones; por lo que, las cepas CagA+ han sido asociadas con un aumento en el riesgo de carcinogénesis gástrica (Kusters, *et al.*, 2006). Por tanto, CagA puede variar de tamaño entre las distintas cepas de *H. pylori*, esta variación proviene de la presencia de un número de repeticiones de una secuencia aminoacídica del extremo COOH-

terminal y puede influir en la patogenicidad de las distintas cepas CagA+ debido a que la variación en el número de sitios de fosforilación implica una distinta efectividad en su unión a SHP-2 y por tanto una distinta activación.

Una vez fosforilada CagA interactúa con el dominio de la fosfatasa 2 homóloga a Src (SHP-2) forma un complejo físico; además, en una fosforilación forma dependiente estimula la actividad de la fosfatasa, señalización de cascadas corriente abajo y participa activamente en la regulación de difusión, migración y adhesión de las células, que llevan al reconocimiento del citoesqueleto. Lo anterior, resulta en cambios de la morfología celular, similares a los inducidos por un factor de crecimiento, tales como el fenotipo “colibrí”, el cual es caracterizado por una prominente elongación, difusión y propagación de las células del huésped, incluyendo la producción de filipodias y lamelipodias (Yamazaki, *et al.*, 2003).

Naito Masanori y colaboradores (2006) en uno de sus estudios encontró que el nivel de fosforilación y la capacidad de CagA de inducir el fenotipo “colibrí” es directamente proporcional al número de motivos EPIYA-C y EPIYA-D tanto en cepas occidentales como orientales respectivamente. Así, como la interacción de CagA con Cks es proporcional al número de motivos EPIYA-A y EPIYA-B. También reporta que EPIYA-D tiene mayor afinidad por SHP-2 que EPIYA-C, lo que indica que los cambios celulares inducidos por cepas portadoras del motivo EPIYA-D son más agresivas (Arévalo, 2010; Hatakeyama, 2011).

La presencia de los motivos EPIYA son de gran importancia, podrían explicar la variabilidad de cagA, y las diferencias en la patogenicidad de las cepas de *H. pylori*, basados en estas secuencias se han denominado cuatro sitios EPIYA (A,B,C,D) (Hatakeyama, 2011).

La proteína CagA de cepas de *H. pylori* que comúnmente circulan en países de Occidente, tales como Europa, Norte América y Australia poseen EPIYA Occidental, clasificados como EPIYA-A, EPIYA-B y EPIYA-C. Además, definidos por las secuencias aminoacídicas circundantes a estos motivos (CagA tipo A-B-C) (Fig.1). Interesantemente el segmento EPIYA-C está colocado dentro de una secuencia de elasticidad de 34 residuos aminoacídicos; estos 34 están repetidos de 1-3 veces en diferentes tipos de CagA de Occidente por lo cual, el número de sitios EPIYA-C pueden variar de una forma a otra al siguiente CagA Occidental (Hatakeyama, 2011). Se ha sugerido que el número de sitios EPIYA-C está directamente correlacionado con los niveles de fosforilación de tirosina, la actividad de unión de SHP-2 y el daño celular. La proteína CagA de cepas de *H. pylori* en países de Asia Oriental, tales como Japón, Korea y China son conocidos como EPIYA de Asia Oriental y poseen motivos EPIYA-A, EPIYA-B y EPIYA-D (CagA tipo A-B-D (figura 1); el motivo EPIYA-D tiene una alta afinidad por SHP-2, que el motivo EPIYA-C Occidental y parece inducir más cambios celulares (Hatakeyama 2011).

La presencia de polimorfismos estructurales en la proteína CagA podría explicar la existencia de cepas más agresivas que otras, los cuales varían dependiendo del área geográfica. Como se mencionó anteriormente la fosforilación ocurre en los motivos EPIYA en especial en EPIYA-C (predominant en cepas Occidentales) o EPIYA-D (predominante en cepas Orientales) (Naito *et al.*, 2006).

Se ha reportado que la prevalencia de la proteína CagA con tres motivos EPIYA (ABC) o cuatro motivos EPIYA (ABCC) es la misma dentro de los grupos de adultos y de niños. Sin embargo, las especies de CagA con más de cuatro motivos EPIYA fueron observados exclusivamente dentro de adultos, lo que sugiere que cepas CagA+ pueden adquirir más EPIYA-C a lo largo de la edad adulta (Yamazaki, *et al.*, 2003).

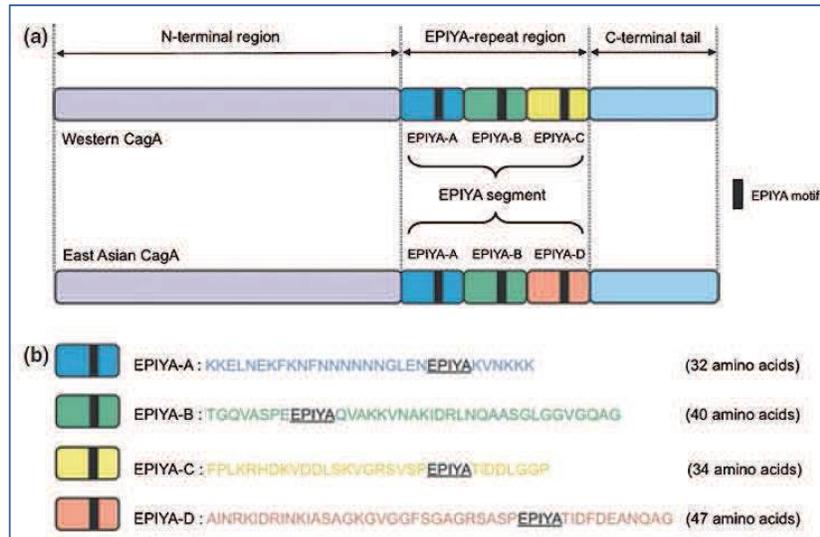


Figura 1. Esquema Molecular de la proteína CagA Tomado de Hatakeyama, 2010

La secuencia de 16 aminoácidos situados inmediatamente al lado del segmento de EPIYA-C o EPIYA-D originalmente se identificó como una secuencia que media la multimerización de CagA en células huésped, este evento es importante para que se establezca la interacción con SHP2 y también es crucial para la inducción eficiente del fenotipo “colibrí”. (Hatakeyama, 2010).

Material y métodos

Extracción de DNA y características de amplificación del gen *cagA*

A partir de los cultivos bacterianos puros se realizó una suspensión en PBS tomando con un asa bacteriológica crecimiento de 24 h. de incubación. De la suspensión bacteriana se tomó una alícuota para realizar la extracción de DNA mediante un kit comercial (Kit. Wizard Genomic DNA purification). Una vez que se extrajo el DNA de cada una de las cepas, se realizó una dilución 1:50 para cuantificar y evaluar la pureza del DNA, el cual se leyó en el espectrofotómetro. Si la densidad óptica (D.O.) varía entre 1.4 y 1.6 era aceptada para su posterior amplificación y secuenciación, de no ser así se volvió realizar una nueva extracción. Se amplificó la región variable 3' del gen *cagA* utilizando los iniciadores *cagA2* y *cagA 4* (Rudi, *et. al.*, 1998)(Tabla I), y el kit comercial Master Mix PROMEGA. Las condiciones de la mezcla de reacción se describe en la tabla II.

Tabla I. Iniciadores que se usaron para la amplificación del factor de virulencia *cagA* de *H. pylori*

Gen	Iniciador	Secuencia 5'-3'	Tamaño del amplicon
<i>cagA</i>	cagA2R	GGAACCCTAGTCGGTAATG	450-850 pb
	cagA4F	ATCTTTGAGCTTGTCTATCG	

Tabla II. Mezcla de reacción utilizada para la amplificación del gen *cagA* de *H. pylori*

Master Mix (PROMEGA)	12.5 µl
Primer cagA2R	2 µl
Primer cagA4F	2 µl
DNA (40µg7ml)	2 µl
H ₂ O	6.5 µl
Total	25 µl

La amplificación por PCR se describe bajo el siguiente protocolo: desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos, por 35 ciclos; desnaturalización a 95°C por 50 segundos, alineamiento y extensión a 72°C por 2 minutos 40 segundos, extensión final a 72°C por 2 minutos condiciones (Rudi, *et al.*, 1998).

Análisis de los amplificados.

Se preparó un gel de agarosa al 1% en TBE 1X, conteniendo 1 µL de Gel Red. Se mezclaron 2µl de cada producto de PCR con 1µl de regulador de carga, una vez mezclado se colocaron en los pozos del gel, en el primer pozo se colocó el marcador de talla molecular (100pb de Promega) y en los siguientes los productos de PCR; se utilizó como control positivo la cepa de referencia 26695 de *H. pylori*, y como control negativo una cepa PAO de *Pseudomonasaeruginosa*. Se programó la fuente de poder a 100V y se corrió durante 45 minutos. Al término de la electroforesis se visualizaron los fragmentos de DNA mediante luz UV y se tomó una fotografía de la imagen.

Secuenciación de motivos EPIYA

Para la secuenciación de los amplicones del gen 3' *cagA* (450-850 pb). Se realizó lo siguiente:

- Purificación de los productos de PCR siguiendo la metodología indicada por el kit ExoSap IT® (Affymetrix).
- La cuantificación de DNA de los amplicones purificados se realizó en el equipo Nanodrop.
- Una vez cuantificado el purificado del amplicon se realizaron las diluciones pertinentes para enviarlos a la empresa MacroGen-Korea para su secuenciación.
- Una vez secuenciado el amplicon se realizó el análisis Bioinformático, utilizando, el programa BioEdit y ExPASy-ToolTraslate. (<http://web.expasy.org/translate/>). Para determinar el tipo y número de motivos EPIYA.

Resultados

En el análisis electroforético de los productos de amplificación de la región 3' de gen *cagA* (Figura 2), los productos obtenidos mediante PCR presentaron un peso en pb dentro de lo esperado (450-850 pb) (Tabla I).

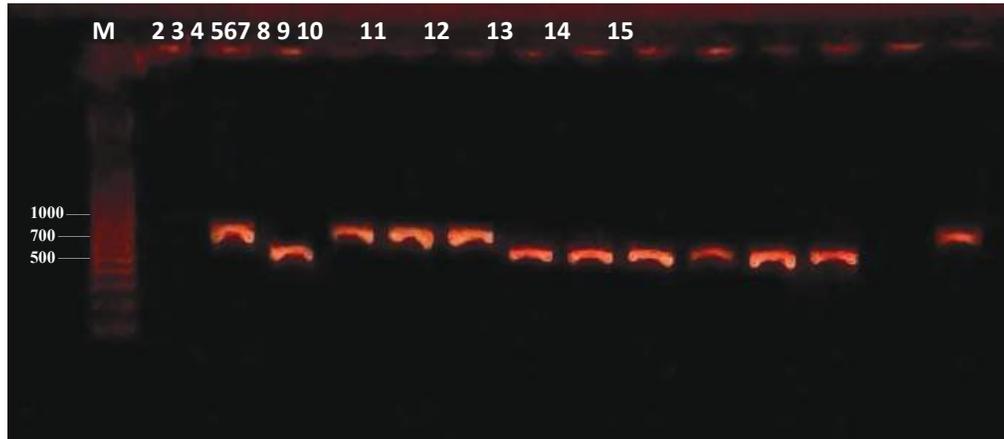


Figura 2. Análisis electroforético de los productos amplificados de la región variable 3' terminal del gen *cagA* de *H. pylori* de cepas aisladas de pacientes pediátricos. Carril 3-13 cepas que presentan el gen *cagA*, carril 14 cepa de referencia negativa, carril 15 cepa de referencia positiva 26695 *H. pylori*. M: 100 pb DNA (Promega).

La secuenciación de los productos de PCR (región 3' del gen *cagA*) mostraron un patrón EPIYA-ABCC para el paciente A (11 cepas marcadas como 138 y 77 en la figura 2), característico de cepas de países occidentales (CagA occidental). Para el paciente B (6 cepas marcadas como 135 y 166 en la figura 2) mostraron un patrón EPIYA-ABC. Este análisis se logró mediante la identificación de los patrones descritos por Hatakeyama en el 2010 y simplificados en la tabla IV.

Tabla IV. Segmentos representativos de los motivos EPIYA.

TIPO	SECUENCIA REPRESENTATIVA
A	KELNEKFKSFNNNNGLKNS TEPIYA KVNKKK
B	GQAASPE EPIYA QVAKKVNAKIDRLNQIASGLG GVGQAVG
C	FPLKRHDKVDDLKVLGSLASPE EPIYA TIDDLGG
P	

	10	20	30	40	50	60	70
135-14/34-105	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
135-6/33-104	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
135-7/33-104	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
135-8/32-103	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-12/30-169	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-13/33-172	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-15/31-170	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-18/33-172	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-6/34-173	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-8/31-170	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
138-9/31-170	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
166-16/32-103	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
166-18/33-104	KNS	EPIYAKVNKKK	GQVASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGRSVS	EPIYA	TIDDLGGP	
77-10/33-138	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
77-14/32-137	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
77-4/31-136	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	
77-9/33-138	KNS	EPIYAKVNKKK	GQAASPEEPIYAQVAKKVN	AKIDRLNQIASGLGDDLSKVGLSAS	EPIYA	TIDDLGGP	

Figura 3. Ejemplo del análisis de las secuencias de los productos amplificados de la región variable 3' terminal del gen *cagA* de *H. pylori* de LAS 17 cepas aisladas de pacientes pediátricos. Se marcan con colores distintos los motivos EPIYA encontrados: Rojo (EPIYA A), Verde (EPIYA B), Amarillo (EPIYA C).

Discusión y conclusiones

El presente trabajo forma parte de un proyecto de tesis de licenciatura, la investigación realizada aportará nuevos datos epidemiológicos sobre las infecciones y reinfecciones por *Helicobacter pylori* en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, y el tipo de cepa que coloniza a los pacientes.

Al finalizar el presente podemos encontrar que:

- Existe variabilidad en la región 3' del gen *cagA* de cepas aisladas de dos pacientes que cursaron por dos eventos diferentes, encontrándose de 3 y hasta 5 motivos EPIYA siendo el más común el EPIYA-ABCC para el paciente A y EPIYA-ABC para el paciente B.

- La recurrencia de la infección por *H. pylori* está dada por una reinfección en el paciente A, encontrándose 1 tipo de EPIYA: ABCC, Mientras que en el paciente B está dada por recrudescencia, encontrándose el motivo EPIYA-ABC, La diversidad de patrones EPIYA de las cepas aisladas, indica la presencia de co-infección.

Agradecimientos:

Dra. Norma Velázquez Guadarrama, Profesora-Investigadora del laboratorio de Infectología en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, por adjuntarme a este proyecto de investigación y por proporcionarme la capacitación y los materiales necesarios para la realización del mismo.

Q.B.P. Ana Caren Cortés Márquez por el apoyo brindado durante la estancia de verano para aprender las técnicas necesarias para la realización de cada una de ellas,

M. en C. Sandra Mendoza Elizalde por el apoyo brindado durante la estancia de verano para aprender las técnicas necesarias para la realización de cada una de ellas.

Hospital Infantil de México Federico Gómez por abrirme las puertas de esta gran institución de salud para adentrarme a esta experiencia con la investigación científica.

Referencias

- Agudo, P.S. 2010. Estudio molecular de los factores de virulencia y resistencia a claritromicina en la infección por *Helicobacter pylori*. Madrid pp. 2-6,8.
- Kusters, J. G., Vliet, A.M. Kuipers, E.J. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *ClinicalMicrobiology Rev.* 19(3):449-490.
- Rajidrajith, S. M. Niranga, M. D., Janaka, H. S. 2009. *Helicobacter pylori* Infection in Children. *Saudi J Gastroenterol.* 15(2): 86–94.
- Hatakeyama, M. 2011. “Anthropological and clinical implications for the structural diversity of the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. *Cancer Sci.* 102(1): 36-43.
- Yamazaki, S., Yamakawa, A., Ito, Y., Masahiro, O. Hideaki, H., Hatakeyama, M., Azuma, T. 2003. The CagA Protein of *Helicobacter pylori* is translocated into Epithelial Cells and Binds to SHP-2 in Human Gastric Mucosa. *J InfectionDisease.* 15;187(2):334-7.
- Naito M, Yamazaki T, Tsutsumi R, Higashi H, Onoe K, Yamazaki S, Azuma T, Hatakeyama. 2006. Influence of EPIYA-repet polymorphism on the phosphorylation-dependent biological activity of *Helicobacter pylori* CagA. *JournalGastroenterology.* 130(4): 1181-90
- Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle PR, Stremmel W. 1998. Diversity of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes an relationship to VacA and CagA protein expression cytotoxin production and, associated diseases. *J ClinMicrobiol.* 36(4): 994-8.



Alcance de los determinantes positivos en el apego terapéutico de la Diabetes mellitus tipo 2

María Azucena Melquiadez Cruz (Becario Programa Delfín)

Unidad Académica de Enfermería No. 3. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. María Refugio Patiño Moreno (Asesor)

cuquipm@yahoo.com.mx

Escuela de Enfermería y Salud Pública. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Introducción

La Diabetes mellitus tipo II, es definida como un conjunto de síndromes hiperglucémicos debido a que las acciones de la insulina no se llevan a cabo, principalmente la entrada de glucosa a nivel celular, afectando principalmente a personas con obesidad de tipo central y personas con disposición genética. Las complicaciones de la Diabetes Mellitus tipo II, son múltiples y entre ellas podemos encontrar cardiopatía isquémica, insuficiencia renal, amputaciones no traumáticas, coma hiperosmolar no cetósico y neuropatía, dichas complicaciones se presentan cuando no existe un apego al tratamiento por parte de los pacientes, disminuyendo sus años de vida y deteriorando la calidad de los mismos. La presente investigación pretende identificar los determinantes considerados como positivos y analizar su alcance en el apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarímbaro, Michoacán. Las preguntas de investigación planteadas ¿Cuál es el alcance de los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, para mantener su apego terapéutico? Los objetivos fueron, identificar los determinantes que son considerados como positivos, para conservar el apego terapéutico, por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, y analizar el alcance de los determinantes considerados como positivos en el apego terapéutico, por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarímbaro, Michoacán.

Metodología

Los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, son importantes para mantener su apego terapéutico. Las variables dependientes son: apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II., e independientes: los determinantes positivos. El tipo de estudio fue transversal descriptivo con un abordaje de análisis cuantitativo; el procedimiento consistió en medir un grupo de personas y en este caso, dos variables proporcionando su descripción y se establecieron los aspectos de: población, muestra, límites, materiales y el procedimiento. Se elaboró un cuestionario con 9 ítems de respuesta dicotónica para la recolección de datos importantes para esta investigación por parte de los pacientes con Diabetes mellitus tipo II, en control. Posteriormente se realizó la tabulación de la información recolectada, en tablas para facilitar el trabajo de validación estadística y su evaluación. Con el uso del paquete estadístico SPSS 21, efectuamos el análisis estadístico y evaluación de la información, arrojándonos resultados que aprueban la hipótesis de investigación.

Resultados

La participación en el estudio en cuanto al sexo, fueron entrevistados 24 mujeres y 6 hombres, en cuanto a la distribución por edad fue en el rango de 60 a 69 años, seguido por 50 a 59, tiempo de evolución de la enfermedad 13 individuos refieren más de 5 años, y 12 de ellos de 1 a 3 años. El 83% refieren conocer el nombre de sus medicamentos y el 87% conoce las 3 medidas para su control, 87% refieren refieren medidas de higiene, las enfermedades crónicas concomitantes solo el 67%, solo el 93% conoce los alimentos permitidos, 73% tiene apoyo familiar y familiares con Diabetes

Conclusión

En el presente estudio se logró alcanzar los objetivos establecidos, esto significa que hemos podido identificarlos determinantes considerados como positivos y analizar su alcance en el apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarimbaro, Michoacán.

Los determinantes considerados como positivos por las personas entrevistadas con Diabetes mellitus tipo II son: El tener pleno conocimiento sobre la Diabetes mellitus tipo II, por parte de los pacientes entrevistados, esto se debe a que el personal de salud se ha encargado de concientizar, motivar, orientar y dar información adecuada al paciente. La conciencia que tienen los pacientes entrevistados sobre lo importante que es cuidar su salud y las consecuencias que esto conlleva. Esto ha permitido a que los pacientes entrevistados se apeguen a su tratamiento.

El siguiente determinante positivo, considerado por las personas entrevistadas, es el conocer las 3 medidas básicas. Los pacientes entrevistados mencionaron no solo conocer las 3 medidas básicas, sino, que también las llevan a cabo, por lo que mantienen una alimentación sana para el diabético, realizan ejercicio moderado diariamente y toman sus medicamentos a la hora indicada. Los pacientes entrevistados también comentaron que al realizar estas 3 medidas básicas, se sienten sanos y mantienen sus niveles de glucosa estables. Para las personas entrevistadas, otro determinante positivo es conocer y aplicar las medidas higiénicas de los pies del diabético, mediante una buena limpieza, revisión diaria de sus pies y tratar de usar calzado cómodo para reducir el riesgo del pie diabético. Respecto a la alimentación, los pacientes entrevistados tienen como determinante positivo, el conocer los alimentos permitidos. Los pacientes mencionaron consumir principalmente verduras, poca cantidad de frutas dulces, algunos cereales, beber de 1 a 3 litros diarios de agua y evitar el consumo de carnes rojas y alimentos grasosos. Otro determinante positivo que refirieron los pacientes es contar con el apoyo de algún familiar o cualquier otra persona cercana a ellos. Esto se debe a que los familiares se involucran de forma emocional y económica, mostrándose interesados en el control de la enfermedad del paciente. Y las personas no consanguíneas de los pacientes entrevistados, ayudan a dichos pacientes en su autoestima cuando les hablan acerca de que deben sentirse independientes de su enfermedad. El tener un familiar que presente la misma enfermedad, es un determinante positivo para los pacientes entrevistados, porque son orientados por dicho consanguíneo sobre los cuidados especiales que deben seguir y como mantenerse disciplinados en la toma de sus medicamentos. Por último, la independencia y la autoestima también son consideradas como determinantes positivos por los pacientes entrevistados, ya que se sienten capaces de seguir un tratamiento terapéutico por sí mismos. Los pacientes entrevistados con Diabetes mellitus tipo II, refirieron lograr mantener sus niveles de glucosa en cifras normales, a causa del impulso que representan los determinantes positivos para estos pacientes, siendo necesarios para el apego a su tratamiento. De esta manera los pacientes han evitado posibles complicaciones a futuro de la Diabetes Mellitus tipo II, y por ende, han prolongado sus años de vida y mejorado la calidad de los mismos. Por lo tanto, esta investigación concluye que los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, han actuado de forma sinérgica, teniendo un alcance importante en el apego terapéutico por parte de los pacientes. Por lo cual, queda comprobada la hipótesis de investigación.

Referencias

- ALAD. (2000). Guías ALAD de Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Recuperado de <http://alad-latinoamerica.org/phocadownload/guias%20alad.pdf>
- American Diabetes Asociación. (2014). Diagnóstico y clasificación de la Diabetes Mellitus. Cuidado de la Diabetes, 37(7), 81-90. Recuperado de http://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S/S8/T3.expansion.html
- Blackshear, P. (2000). Medicina Interna. Argentina: Médica Panamericana.



Análisis de expresión de receptores hormonales y cerbB2 en pacientes con cáncer de mama del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI

Ingrid De La Sierra Caballero, Maricruz Germán Navarrete (Becarios Programa Delfín)

ingrid.publicidad@hotmail.com, y maria_ger_navarrete@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería No. 4. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Fernando Candanedo González (Asesor)

Departamento de Patología Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI. I.M.S.S.

Resumen

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea representando un problema epidemiológico y constituye una prioridad en salud. En los países en desarrollo, se ha prestado insuficiente atención a este problema sanitario. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar subgrupos de pacientes con cáncer de mama en base a la expresión de receptores hormonales en el Hospital de Oncología de Centro Médico Nacional Siglo XXI. I.M.S.S. Material y Métodos: Se realizó un estudio transversal, de cohorte histórico, de tipo retrospectivo. Se agruparon a las pacientes en base a la edad, expresión de receptor de estrógenos (RE), receptor de progesterona (RP) y cerbB2. El estatus de los receptores hormonales y de cerbB2 en cada caso fue determinado empleando el método de inmunohistoquímica. Se utilizaron anticuerpos monoclonales anti RE, anti RP y anti-cerbB2 (Dako Ltd, Dinamarca). Resultados: La población total fue de 809 pacientes. Se excluyeron 502 pacientes; 445 pacientes no contaban con edad, 50 no contaban con inmunohistoquímica. De las cuales sólo se estudiaron 307 pacientes con cáncer de mama que contaban con edad y receptores hormonales. El 48% de los tumores fue positivo para RE/RP y negativo para cerbB2. El 17% corresponde al grupo de triples negativos. Sólo 6% de los casos fue RE+/RP-/cerbB2-; todos los casos se presentaron en pacientes posmenopausicas. En contraste, sólo 9% de los casos sólo expreso RP. En conclusión, en nuestra cohorte de pacientes el grupo principal fue el que mostro expresión de RE+/RP+/cerbB2-, el cual represento el 48%.

Palabras clave: cáncer, mama, receptores hormonales, progesterona.

Introducción

Es posible que altas cantidades de estrógeno en la sangre aumenten el riesgo que una mujer desarrolle cáncer de mama. Durante el transcurso de su vida, las mujeres se exponen a las hormonas esteroideas, desde su primer ciclo menstrual, hasta la menopausia, se sabe que el estrógeno y la progesterona estimulan las células normales de la mama. Es esta exposición a las hormonas a lo largo de su vida lo que posiblemente aumente el riesgo. Por ejemplo, presentar la menarca antes de los 12 años, tener un hijo después de los 35 años de edad o pasar por la menopausia después de los 55 años aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

El papel de la progesterona en cáncer de mama; la progesterona es una hormona esteroide implicada en el ciclo menstrual, el embarazo y la embriogénesis. Se compone de cuatro hidrocarburos cíclicos interconectados. La

progesterona, al igual que todas las demás Hormonas esteroides, se sintetiza en pregnenolona, un derivado del colesterol. Se produce principalmente en los ovarios (cuerpo lúteo) y durante el embarazo en la placenta. En las mujeres, los niveles de progesterona en suero tienden a ser <2 ng/mL antes de la ovulación y >5 ng/mL después de la ovulación. Durante el embarazo pueden llegar a ser de 100 a 200 ng/mL. Por otra parte, la progesterona es esencial para el desarrollo de la glándula mamaria normal durante la pubertad y en la preparación de la mama para la lactación. Está implicada en el desarrollo y progresión del cáncer de mama. *In vitro*, tanto estrógenos como progesterona inducen proliferación de líneas celulares derivadas de tumores de mama de seres humanos, mientras que en mujeres posmenopáusicas que tomaron terapia de reemplazo hormonal (TRH) combinada con estrógenos y progesterona, tienen una mayor incidencia de cáncer de mama que las mujeres que sólo tomaron estrógenos. Estas observaciones implican fuertemente a la progesterona en la etiología de la enfermedad, aunque la acción y los mecanismos moleculares por medio de los cuales la progesterona promueve crecimiento aún no están bien comprendidos. La acción de la progesterona está mediada por Receptores de Progesterona. A través de una vía genómica o no genómica. La vía genómica fue la primera que se estudió, se lleva a cabo directamente en el núcleo de las células. Sin embargo, recientemente se ha identificado una acción no genómica o no transcripcional de la progesterona, mediante mecanismos de transducción de señales a través de receptores de membrana citoplasmática o citoplasma de las células. El cáncer de mama es la neoplasia maligna más común en mujeres tanto en países desarrollados como en los países en vías de desarrollo y representa el 16% de todos los cánceres en mujeres. Su importancia radica en que es la segunda causa de muerte en nuestro país. Dada la importancia epidemiológica del cáncer de mama a nivel mundial, el tratamiento actual del cáncer de mama se basa en su clasificación molecular, que correlaciona perfectamente con la expresión de receptores hormonales, los cuales son evaluados por inmunohistoquímica y son determinantes importantes de la terapia. En nuestra población no existen estudios que evalúen por subgrupos de riesgo en base a la expresión de receptores hormonales. Por lo que consideramos importante realizar un estudio de cohorte que reúna un gran número de pacientes con cáncer de mama agrupadas en base a la expresión de receptores de estrógenos, progesterona y *cerbB2*.

Metodología

El presente estudio será longitudinal, de cohorte histórico, de tipo retrospectivo. Se formaran dos grupos uno de casos y controles. Todos los casos serán reevaluados por un patólogo (FCG) y reclasificados en base a los criterios de la Organización Mundial de la Salud. Se formara una cohorte de pacientes en base a la revisión de todos los protocolos de inmunohistoquímica del departamento de Patología. Posteriormente se revisaran expediente clínico en la base electrónica y en el archivo clínico del Hospital de Oncología. Se agruparán a las pacientes en base a la edad, expresión de receptor de estrógenos, receptor de progesterona y *cerbB2*, tipo histológico, grado histológico, etapa clínica. El estatus de los receptores hormonales y de *cerbB2* en cada caso será determinado empleando inmunohistoquímica utilizando anticuerpos monoclonales anti RE, y anti RP (Dako Ltd, Dinamarca).

Resultados

Se obtuvo de los expedientes clínicos (físico y electrónico) del C.M.N. Siglo XXI una población total de 809 pacientes con el diagnóstico de Cáncer de mama, de las cuales se excluyeron, 7 pacientes del género masculino y 50 mujeres que no cumplieron con los estudios de inmunohistoquímica completos. En total se incluyeron 752 pacientes que cumplían con todos los requisitos. Del total de pacientes, se excluyeron 77 pacientes de género masculino y 50 pacientes femeninas con expediente clínico incompleto. En C.M.N. Siglo XXI del año 2009-2011. En 146 pacientes se encontró expresión de receptor de RE y RP y negativo para *cerbB2*. En la tabla 1. Se muestra la clasificación de subgrupos y la frecuencia de todas las pacientes.

Tabla 1. Grupo de edades de pacientes de C. M. N. siglo XXI, 2009-2011 de género femenino, pre y post menopáusicas.

Grupos de edad	n	%
30 – 44	12	40
44 – 83	18	60

Tabla 2. Clasificación de subgrupos y frecuencia de los pacientes

Subgrupos	n=	%
RE+ PR- cerbB2+	7	3 %
RE+ PR+ cerbB2-	146	48 %
RE- PR- cerbB2+	33	11 %
RE+ PR+ cerbB2+	14	4 %
RE+ PR- cerbB2-	21	6 %
RE- PR+ cerbB2-	30	9 %
RE- PR- cerbB2-	52	17 %
RE- PR+ cerbB2+	4	2 %
	307	100 %

El 48% de los tumores fue positivo para RE/RP y negativo para cerbB2. El 17% corresponde al grupo de triples negativos. Sólo 6% de los casos fue RE+/RP-/cerbB2-; todos los casos se presentaron en pacientes posmenopausicas. En contraste, sólo 9% de los casos sólo expreso RP. En conclusión, en nuestra cohorte de pacientes el grupo principal fue el que mostro expresión de RE+/RP+/cerbB2-, el cual represento el 48%. Se identificaron 30 pacientes que solo expresan positividad para el receptor de progesterona, éstas se dividieron en dos grupos que representan pre y post menopausia, encontrando que no hay una diferencia entre las mujeres que padecen cáncer antes o después de la menopausia ya que 12 pacientes son menores de 45 años y 18 son mujeres mayores de 45 años.

Tabla 3. Muestra la clasificación de las pacientes del C. M. N. siglo XXI, 2009-2011 de género femenino, pre y pos menopáusicas, de acuerdo al subgrupo al que pertenece

Subtipos	< 45	> 45
RE+ PR- cerbB2+	2	5
RE+ PR+ cerbB2-	28	118
RE- PR- cerbB2+	5	28
RE+ PR+ cerbB2+	4	10
RE+ PR- cerbB2-	0	21
RE- PR+ cerbB2-	12	18

RE- PR- cerbB2-	14	38
RE- PR+ cerbB2+	3	1

Discusión

Cada día se observa un aumento en la generación de información pronóstica que con diferentes grados de significancia, trata de orientar un óptimo manejo terapéutico para cada caso, evitando así un sub o sobre tratamiento. Es así como se buscan desde el punto de vista histológico, métodos más refinados que proporcionen una mejor información pronóstica.

Conclusiones

En conclusión el subgrupo de pacientes positivos para RE+/RP+/cerbB2- fue el más frecuente. En contraste sólo en el 9% de la población se identificó únicamente expresión de RP. En Latinoamérica existe poca información respecto a las características clínicas relacionadas con el cáncer de mama en pacientes menores de 40 años de edad, cuando éstas se subdividen por grupos de edad más específicos; generalmente se limitan al estado pre o postmenopáusico y no a la subdivisión por grupos de edad, sobre todo en pacientes jóvenes.

Agradecimientos

El presente trabajo de investigación fue supervisado por el Dr. Fernando Candanedo, a quien le expresamos un profundo agradecimiento por haber dedicado su tiempo en compartir con nosotras sus conocimientos, su paciencia y sobre todo su fe en nosotras, mostrando el camino correcto para que este trabajo culminara de manera exitosa. A la Doctora Isabel Alvarado, que nos enseñó que no necesitamos nada más que tener el valor y las ganas para emprender, más que un curso nos dio alas para seguir volando. Al Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, por haber permitido que hiciéramos de sus instalaciones nuestro hogar por más de un mes, a todo el personal por habernos recibido tan calurosamente, Dr. Felipe gracias por habernos dado tantos bellos consejos, los atesoramos en nuestro corazón, Dra. Cande usted siempre tan afectiva, sus palabras resuenan en el eco de la vida, Dra. Bello reconocemos su trabajo al permitir que tantos estudiantes tengamos la oportunidad de conocer el hospital.

Referencias

- Graham JD, Clarke CL.** (1997). Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr Rev*; 18:502-519.
- Boonyaratankornkit V, Edwards DP.** (2004). Receptor mechanisms of rapid extranuclear signalling initiated by steroid hormones. *Essays Biochem.* 40:105-120.
- Raafat AM, Li S, Bennett JM, et al.** (2001). Estrogen and estrogen plus progestin act directly on the mammary gland to increase proliferation in a postmenopausal mouse model. *J Cell Physiol*; 187:81-89.
- Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, et al.** (2003). Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women. *JAMA* 2003; 289:3243-3253.
- Aleyamma M, Balakrishnan R, Manoj P.** (2004). Do younger women with non-metastatic and non-inflammatory breast carcinoma have poor prognosis? *World Journal of Surgical Oncology*; 2:1-7



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Análisis de la reactividad de fructosa y maltosa frente acilación por Resonancia Magnética Nuclear

Gladys Wendy Valente Niño (Becario Programa Delfin)

glaadys_valenten@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Armando Ariza Castolo (Asesor)

aariza@cinvestav.mx

Centro de Investigación y De Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional

Resumen

En el presente trabajo se prepararon derivados peracilados de fructosa y maltosa. La finalidad de modificar éstos carbohidratos es evitar la mutrorrotación y cambiar su solubilidad. Debido a que se requiere una energía de activación diferente para la obtención de cada epímero se puede realizar la reacción bajo control termodinámico obteniéndose mayoritariamente el tautómero β , mientras que cuando se realiza con control cinético se favorece la obtención del isómero α . Todos los compuestos obtenidos fueron analizados por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) a 11.75 T que corresponde a una frecuencia de ^1H de 500 MHz, utilizando espectros en una y dos dimensiones como ^1H , ^{13}C , COSY-45, HSQC y HMBC. Los compuestos sintetizados y purificados permiten realizar la asignación de los espectros porque las resonancias se observan menos traslapadas y evita la confusión provocada por tener una mezcla de compuestos en equilibrio químico.

Palabras clave: carbohidratos, RMN, acilación, control cinético, control termodinámico.

Introducción

La fructosa, o levulosa, es una hexosa que a diferencia de la glucosa contiene un grupo cetona por lo que en su forma cíclica no contiene hidrógenos en el carbono del hemiacetal. Está presente en frutas, vegetales y miel (Verónica Cornejo, et al. 2004). En disolución se encuentra en cuatro formas isoméricas (2 piranosas y 2 furanosas) que están en equilibrio, a través de un proceso llamado mutrorrotación. El cual consiste en el cambio configuracional del carbono anomérico que pasa de la posición alfa de un OH a la beta o viceversa, para lograrlo es necesario que se rompa el enlace del hemiacetal, pase a su forma abierta para rotar un enlace simple y volver a formar el heterociclo. Para evitar éste equilibrio y poder tener cada isómero separado así como cambiar su hidrosolubilidad que permita disolverlo en solventes orgánicos se realizó su acetilación, utilizando control termodinámico y control cinético en cada uno de los experimentos. La estereoselectividad se puede controlar cinética o termodinámicamente dependiendo de la trayectoria de la reacción. Lo anterior se puede lograr cuando el producto A se forma más rápidamente (el llamado producto cinéticamente controlado) que el producto B, debido a que la energía de activación para obtener el producto

A es menor que para el producto B, el producto B es más estable y por lo tanto se le llama producto termodinámico (J.P. Praly', et al.1986).

Por otro lado, la maltosa es un disacárido formado por dos glucosas unidas por un enlace glucosídico a través de un oxígeno del carbono anomérico con el carbono 4 de la otra glucosa por lo que tiene dos formas isoméricas debido a que uno de los azúcares en forma de piranosas presenta libre el hidróxilo del hemiacetal (Verónica Cornejo, et al.2004). Para obtener cada uno de los tautómeros de la maltosa se perbenzóiló, es decir se adicionó un grupo benzoato por cada OH del carbohidrato. Esta reacción fue llevada a cabo con cloruro de benzoilo. Se determinaron las interacciones intermoleculares tanto de fructosa como de maltosa por medio de Resonancia Magnética Nuclear, la cual es una técnica espectroscópica que requiere núcleos magnéticamente activos, un campo magnético grande y homogéneo así como un transmisor de pulsos de radiofrecuencia coherentes con la precesión de los espines nucleares y un detector. Cuando se utiliza el método de pulsos y transformada de Fourier se pueden realizar diferentes experimentos que permiten la determinación de espectros en múltiples dimensiones de manera particular utilizamos los métodos que se encuentran en el resumen (William A. Bubb 2006).

Metodología

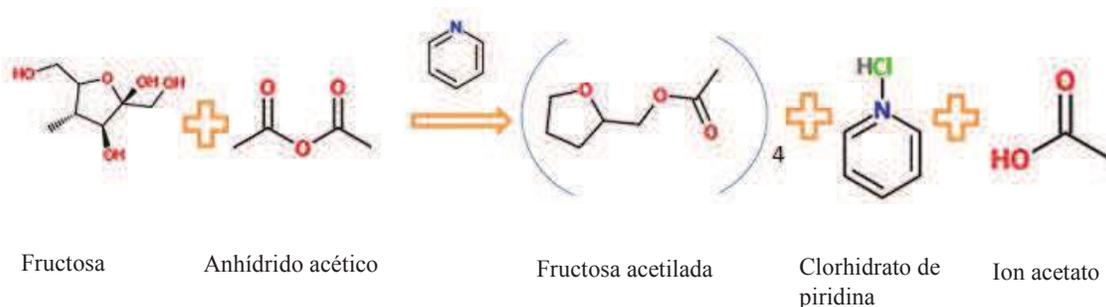
En cuanto a la técnica de acetilación y benzoilación los espectros obtenidos tanto de una dimensión como de dos se obtuvieron por Resonancia Magnética Nuclear en el aparato de 500 MHz, se utilizaron los programas spinworks, Delta RMN.

Para realizar el procedimiento de acetilación de la fructosa con control termodinámico, se coloca en un matraz de balón el carbohidrato, se agrega acetato de sodio para catalizar la reacción. Posteriormente se adicionó anhídrido acético con ayuda de un embudo de agregación, el cual es el agente acetilante, se refluje a 140°C durante 4 horas. Se vierte el producto en un cristallizador que contenía agua y hielo, se dejó por 12 horas, transcurrido este tiempo se separó en dos alícuotas, a la alícuota 1 el sólido resultante es filtrado y recristalizado con metanol para purificar la fructosa per-acetilada, se obtiene un compuesto de aspecto semisólido color ámbar. En cuanto a la alícuota 2 se le agregan 20 ml. de cloruro de metileno, posteriormente es filtrado sobre sulfato de sodio, el cual actuara como desecante, se evapora durante 15 min. y se obtiene un compuesto de consistencia semisólida con color ámbar oscuro, las dos alícuotas fueron analizadas por RMN obteniendo el resultado reportado (Šardžik R, et al. 2010).

Para realizar el control cinético se requiere menor energía de activación, por lo que se realizó el procedimiento; en un matraz de bola con salida lateral se coloca el carbohidrato, se añade piridina anhidra que es utilizada como catalizador en esta reacción, con un embudo de adición se agrega el anhídrido acético utilizado como agente acetilante. Se mantuvo a una temperatura de entre -4 y -7 °C en un sistema de enfriamiento por 17 horas, el crudo de reacción fue separado en dos alícuotas a las cuales por separado se le adicionaron 25 g de hielo y se homogeniza vigorosamente para obtener precipitado, a la alícuota 1 se le agregaron 0.5 ml de HCl al 10% posterior se realizó extracción con sulfato de sodio y se adicionaron 15 ml. de cloruro de metileno para después colocarlo en la bomba de vacío y evaporar; a la alícuota 2 se realizó el mismo procedimiento que la alícuota anterior solo variando las cantidades de HCl (1 ml) y cloruro de metileno (18ml), los compuestos obtenidos fueron analizados por RMN en el aparato de 500 MHz (Rodríguez-Pérez, et al. 2007). Se llevó a cabo una reacción sin control y para esta el procedimiento fue el siguiente; se coloca el carbohidrato en el matraz de bola con salida lateral, posterior se añade la piridina anhidra, se esperó por un tiempo de 30 min. y con ayuda de un embudo de adición se agrega el anhídrido acético el cual es la sustancia acetilante en esta reacción, la mezcla se dejó a temperatura ambiente y en agitación por 93 horas, posterior se realizó la evaporación sin adicionar cloruro de metileno para eliminar la piridina excedente y sin reaccionar, al término de la reacción se obtuvo un compuesto de aspecto caramelo de color amarillo-ámbar.

En el experimento de benzoilación de la maltosa el procedimiento a seguir fue el siguiente; en un matraz de bola con salida lateral se coloca el cloroformo, se adiciona la piridina, esto se coloca en un cristallizador con agua a temperatura de 37°C, se agrega el carbohidrato poco a poco con ayuda de una espátula y se deja reposar 15 min. posteriormente se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. transcurrido el tiempo, se pasa al sistema de enfriamiento *chiller* en donde se dejara en agitación 20 horas a una temperatura de 5°C, el crudo de reacción se caracterizó por RMN y tras obtener los resultados se procedió a realizar la separación de los isómeros de la maltosa mediante la purificación del compuesto, realizado en una columna con sílica y con una polaridad de 9:1 utilizando hexano y acetato de etilo, separando en fracciones de 50 ml y llevando a evaporación para obtener un precipitado blanco (Deferrari J, et al. 1952).

Reacción general de acetilación:



Reacción general de benzoilación:



Resultados

A partir de las muestras de acetilación de fructosa determinadas por resonancia magnética nuclear. En el espectro de protón (Ilustración 1) se observa los desplazamientos químicos de los hidrógenos del anillo, el hidrogeno que aparece a mayor frecuencia es el 2 debido a las condiciones y duplicidad que presenta este en la molécula; así mismo se obtiene ^{13}C el cual nos indica el desplazamiento de cada uno de los carbonos presentes en el ciclo de la fructosa acetilada (Ilustración 2), sin embargo el carbono 1 por estar en las condiciones de tener dos oxígenos a un enlace aparece a mucho mayor frecuencia que los demás (Ilustración 3). En los resultados de dos dimensiones tenemos el COSY 45 (Ilustración 4) el cual nos permite saber la conectividad hidrogeno-hidrogeno es decir saber cómo están acoplados vecinalmente (a tres enlaces). En el HSQC (Ilustración 5) se observa la asignación de protón con cada uno de los carbonos correspondientes ya que este experimento nos indica la conectividad hidrogeno-carbono a un enlace. Para la asignación de los carbonilos fue posible con el HMBC (Ilustración 6) indicándonos la relación a dos y tres enlaces.

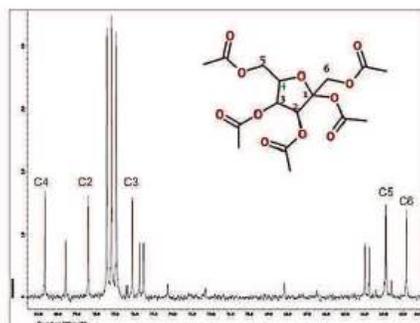


Figura 1. ^1H de fructosa acetilada, 500 MHz

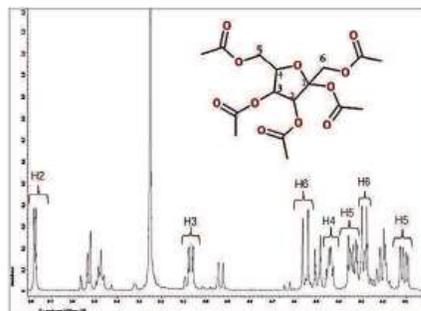


Figura 2. ^{13}C fructosa acetilada 500 MHz

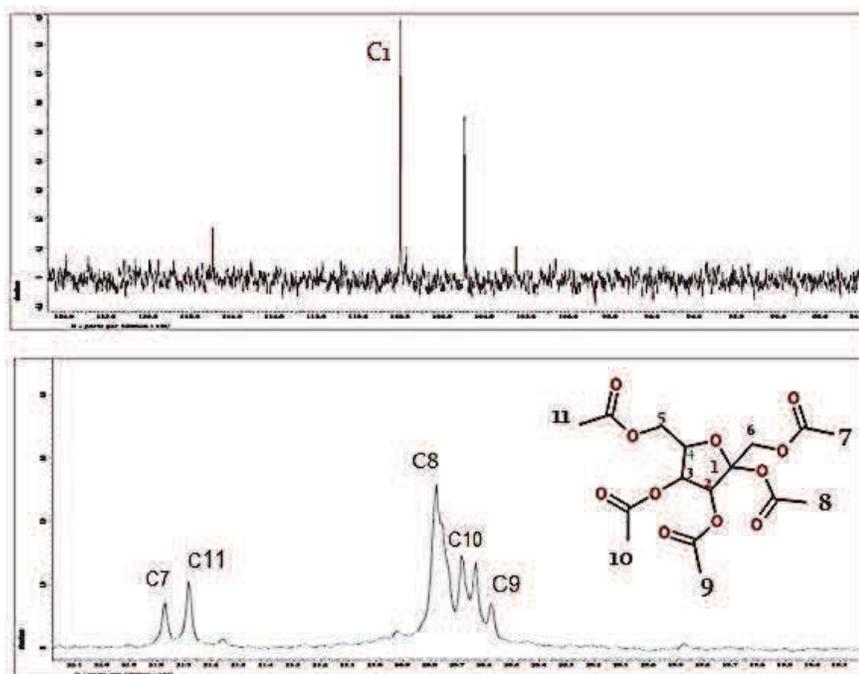


Figura 1. ^{13}C de fructosa acetilada 500 MHz

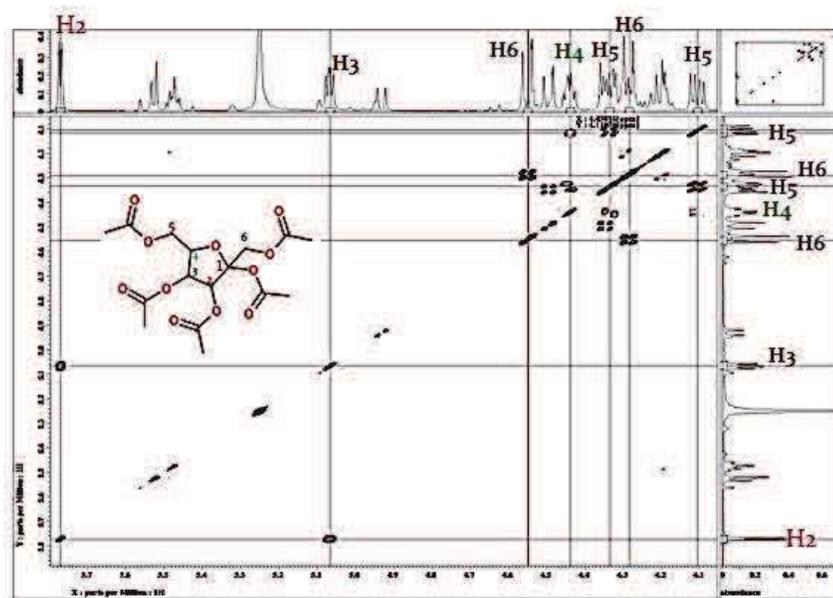


Figura 2. COSY 45 fructosa acetilada 500 MHz

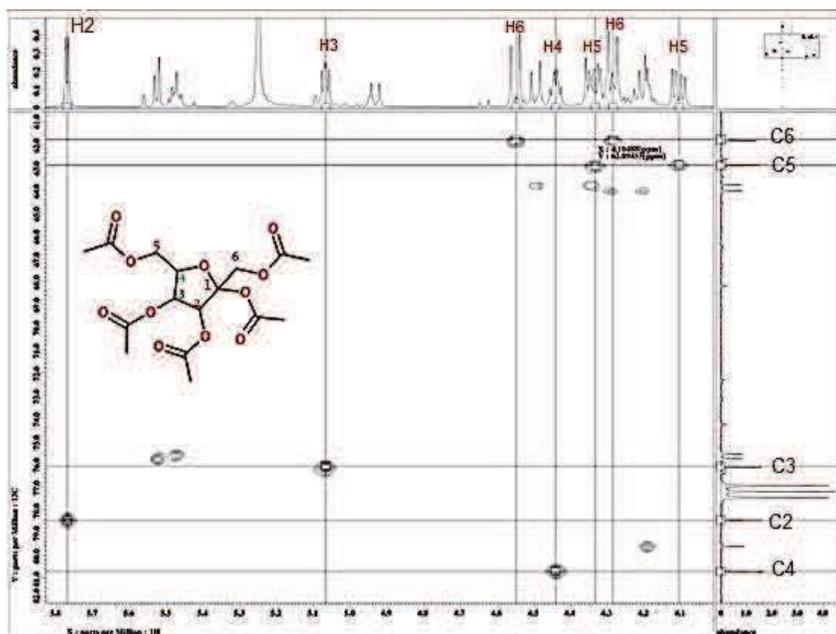


Figura 3. HSQC fructosa acetilada 500 MHz

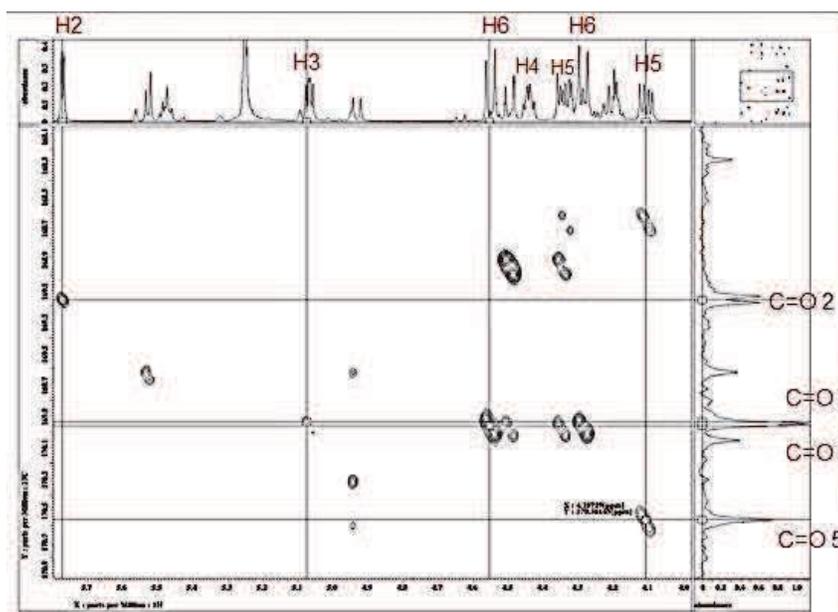


Figura 4. HMBC fructosa acetilada 500 MHz

Discusión

Al introducir grupos acetilo en la molécula de fructosa se logró tener señales más desplazadas en los espectros de ^1H y ^{13}C ayudándonos a la asignación de carbohidratos por medio de RMN; el tautómero mayoritario obtenida en esta reacción fue β -fructosa y el experimento fue llevado a cabo por control termodinámico, sin embargo al observar las señales de ^{13}C se observa la presencia de más de un isómero por lo que algunas señales como el hidrogeno 5 y 6 se

traslapan un poco ya que estas señales presentan la misma duplicidad , además cabe mencionar que el intercambio de grupos hidroxilo por grupos acetilos se llevó a cabo en toda la molécula de fructosa

Conclusión

La protección de los hidroxilos mediante reacciones de acilación impide la mutrorrotación y hacen que los sacáridos sean solubles en disolventes orgánicos lo que permite determinar interacciones intermoleculares por medio de la RMN como el efecto ASIS (Aromatic Solvent Induced Shifts) y puede emplearse para el reconocimiento enantiomérico de compuestos que formen puentes de hidrógeno.

Agradecimientos

Agradezco al Programa Interinstitucional para el Fortalecimiento de la Investigación y el Posgrado del Pacífico, por haberme dado la oportunidad de participar en el XIX Verano de la investigación Científica y Tecnológica del Pacífico y tener esta maravillosa oportunidad de vivir la experiencia de la investigación en una institución nacional. Agradezco a la Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) por abrirme las puertas y permitir mi estancia durante el verano, en particular agradezco al Dr. Armando Ariza Castolo por recibirme de la manera más atenta en el laboratorio 26 del departamento de Química en donde me lleno de conocimientos en el campo de la resonancia, por su paciencia, su amabilidad y su trato, que permitieron hacer de esta estancia la mejor experiencia en el campo del conocimiento.

Referencias

- Deferrari J., Deulofeu V.** (1952). The reaction of ammonia with some acetylated and benzoylated monosaccharides. Derivates of D-Galactose. 3,1097-1101.
- Praly' J.P. and Lemieux R. U.** (1986) Influence of solvent on the magnitude of the anomeric effect. University of Alberta, Edmonton, Alta., Canada. 7-11
- Rodríguez-Pérez T., Lavandera I., Fernández S., Sanghvi Y., Ferrero M., and Gotor V.** (2007). Novel and efficient chemoenzymatic synthesis of D-Glucose 6-phosphate and molecular modeling studies on the selective biocatalysis. 2769-2778.
- Šardžik R., Noble G., Weissenborn M., Martín A., Webb S., and Flitsch S.** (2010). Preparation of aminoethyl glycosides for glycoconjugates. 699-703.
- William A. Bubb** (2006) NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: characterizing the structural complexity. Concepts in magnetic resonance 19, 7-9
- Verónica Cornejo E. Erna Raimann B.** (2004). Fructose metabolism defects. Revista Chilena de Nutrición. 31,2-4



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Análisis de la regulación de la expresión genética de los genes *phoH* y *ugtL* mediada por el regulador transcripcional HilD de *Salmonella typhimurium*

Víctor Hugo Villalva Pérez (Becario Programa Delfin)

villalva_0103@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Deyanira Pérez Morales (Asesor)

deyanira@ibt.unam.mx

Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México

Resumen

Especies de *Salmonella* causan elevada morbilidad a nivel mundial, produciendo múltiples síntomas clínicos. *Salmonella typhimurium* causa gastroenteritis en humanos y una infección sistémica en ratones. *Salmonella* alberga en su genoma múltiples islas de patogenicidad, de las cuales, dos de ellas (SPI-1 y SPI-2) codifican cada una para un sistema de secreción tipo III, los cuales forman parte de los factores de virulencia de la bacteria. SPI-1 se requiere para la invasión, mientras que la infección sistémica y la acumulación intracelular de *Salmonella* son dependientes de la función de SPI-2. La adecuada expresión en tiempo y espacio de los genes de virulencia de SPI-1 está controlada por una compleja jerarquía de factores de transcripción. En estudios previos del laboratorio se ha caracterizado parte del regulón de HilD, el cual es un regulador transcripcional codificado en SPI-1 que se ha descrito activa la expresión de genes que se encuentran codificados en SPI-1 y también fuera de ésta. Este trabajo se basa en determinar si la expresión de dos genes que, de acuerdo a estudios transcriptómicos se sugiere pudiera estar regulada por HilD, es de manera directa o indirecta. Para llevar a cabo este estudio se cuantificó la actividad de la enzima cloranfenicol acetil transferasa fusionada a las regiones reguladoras de los genes *phoH* y *ugtL* en la cepa *S. typhimurium* tipo silvestre y sus derivadas mutantes *hilD*, *hilA* y *invF*. Se determinó que la expresión disminuyó drásticamente únicamente en la mutante *hilD*, lo cual indica que la regulación de la expresión de dichos genes por HilD es directa.

Palabras claves: *Salmonella*, virulencia, SPI-1, regulación transcripcional.

Introducción

El género *Salmonella* está conformado por 2 especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Los miembros del género están ampliamente distribuidos en la naturaleza, causando un amplio espectro de enfermedades en una gran variedad de hospederos, incluido el hombre. Las fuentes de infección más frecuentes con la bacteria son el agua y alimentos contaminados (Caffer *et al.*, 2008).

Entre las especies del género se encuentra *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* (*S. typhimurium*), bacteria anaerobia facultativa, Gram-negativa e intracelular que causa inflamación severa del epitelio de la mucosa intestinal, causando gastroenteritis. Uno de los principales mecanismos de virulencia que usa *S. typhimurium* para causar enfermedad es la expresión del Sistema de Secreción Tipo III (SST3) (Patel y McCornick, 2014), cuya función es la transferencia de proteínas específicas (efectores) hacia el citoplasma de la célula huésped. Estos efectores pueden alterar las funciones celulares del huésped, con el fin de promover la supervivencia y la colonización bacteriana (Haraga *et al.*, 2007).

La mayoría de los genes de virulencia de *S. typhimurium* se encuentran localizados en regiones genéticas específicas del cromosoma que se denominan islas de patogenicidad (SPI's, por *Salmonella Pathogenicity Islands*). Se han descrito más de veinte SPI's, siendo dos de éstas esenciales para la virulencia de *Salmonella*: SPI-1 y SPI-2, las cuales contienen 39 y 44 genes, respectivamente. Los genes que conforman estas islas son expresados en espacio y tiempo células del epitelio intestinal, lo que lleva al desarrollo de la gastroenteritis localizada. SPI-2 se necesita para la sobrevivencia y replicación intracelular en macrófagos y con ello, su diseminación para producir una infección sistémica (Bustamante *et al.*, 2008).

Para que el proceso de infección sea exitoso, se requiere de una expresión genética regulada y coordinada con el fin de asegurar que los factores de virulencia se expresen en el nicho y tiempo apropiado dentro del hospedero. Así, la existencia de mecanismos de regulación de la expresión genética es vital para la virulencia (Akbar *et al.*, 2003).

La expresión de los genes de SPI-1 está controlada por una compleja jerarquía de factores de transcripción codificados dentro y fuera de SPI-1. El regulador transcripcional HilA (presente en SPI-1) activa la expresión de todos los genes necesarios para el montaje de un SST3 funcional. Sin embargo, la activación de *hilA* depende de otro regulador transcripcional, HilD (Petroni *et al.*, 2014). Se sabe que HilD también controla la expresión del operón SsrAB, el cual es el regulador central de los genes de SPI-2 (Bustamante *et al.*, 2008). Además de estos genes, HilD regula a otros genes, localizados fuera de SPI-1. Gracias a la colaboración de nuestro laboratorio con el grupo del Dr. Jay Hinton (Liverpool, Inglaterra), se pudo determinar, al comparar los perfiles transcriptómicos de la cepa wt de *S. typhimurium* y su derivada mutante *hilD*, que aproximadamente 40 genes no descritos anteriormente a ser regulados por HilD, disminuyeron significativamente su expresión. Dados estos antecedentes, el presente trabajo se basa en determinar si algunos de estos genes son regulados por HilD de manera directa o indirecta, a través de la cascada de regulación con HilA e InvF.

Materiales y métodos

Cepas, plásmidos y cebadores: Las cepas bacterianas de *Salmonella* utilizadas en este estudio se derivaron de la *S. Typhimurium* SL1344 tipo silvestre (wt). Para el proceso de replicación y purificación de los plásmidos generados se utilizó *Escherichia coli* DH5. Las cepas y plásmidos empleados se enumeran en la Tabla 1, así como los cebadores y enzimas empleadas en las diferentes técnicas que se llevaron a cabo en el estudio. *S. typhimurium* y *E. coli* fueron cultivadas en medio Luria-Bertani (LB).

Tabla 1. Cepas, plásmidos y cebadores utilizados en el estudio.	
Nombre	Descripción
Cepas	
<i>S. typhimurium</i> SL1344	<ul style="list-style-type: none"> > SL1344 Δwt: cepa silvestre; Stp^R > SL1344 Δ<i>hilD</i>; Stp^R > SL1344 Δ<i>hilA</i>; Km^R Stp^R > SL1344Δ <i>invF</i>; Km^R Stp^R
<i>E. coli</i>	> DH5α
Plásmidos	
pKK 232-8	Derivado de pBR322, contiene el gen <i>cat</i> (cloranfenicol acetil transferasa) sin promotor, empleado para la construcción de fusiones transcripcionales; Amp ^R .
Cebadores	
	Secuencia (5' a 3')
Fw SL1783	CGA GGA TCC GCG TAT GCT GAG AAA ATC G
Rv SL1783	CGA AAG CTT TAG CAC ACT CTT TAG CCG AG
Enzimas	
HindIII	> Enzima de restricción.
BamHI	> Enzima de restricción.
T4 DNA Ligasa	> Enzima de ligación.
Taq Polimerasa	> Enzima de replicación de ADN.

Amplificación y purificación del gen 1783: Se amplificó la región reguladora del gen hipotético SL_1783 a partir de la cepa *S. typhimurium* SL1344 wt utilizando el método por PCR con los cebadores indicados en la Tabla 1 específicos para el gen SL_1783. El producto de PCR se corrió en un gel de agarosa al 1% con amortiguador TAE (Tris-Acetato-EDTA 1X, pH 8,0) a 100V durante 1 hora. El gel fue teñido con bromuro de etidio (0,5 µl/mg) y el producto amplificado se visualizó en un transiluminador de luz UV de onda corta (SIGMA), lo cual permitió identificar la banda del tamaño correspondiente a la región amplificada. Una vez corroborado la amplificación del gen, se purificó dicho producto usando el kit “High pure PCR product purification kit” (Roche).

Digestión y ligación del gen 1783: El fragmento amplificado y el plásmido pKK232-8 (Tabla 1) fueron digeridos con 1 µl de las enzimas de restricción HindIII y BamHI durante 6 horas a 37°C. Después del tiempo de incubación, las digestiones dobles fueron purificadas con el kit High pure PCR (Roche) y se visualizaron en gel de agarosa al 1%. El producto de PCR y el vector pKK232-8 fueron mezclados en la reacción de ligación utilizando 1 U de la enzima T4 DNA ligasa (Tabla 1) e incubando la reacción a 16°C durante 12 horas. Posteriormente, la ligación se precipitó agregando 1 µl de glicógeno (20mg/ml) y posteriormente 500 µl de etanol absoluto, dejando incubar a -20°C durante 30 min. A continuación se centrifugaron 15 min a 14,000 rpm, decantando el sobrenadante obtenido. Se agregó 1 ml de etanol al 70% y se volvió a centrifugar como en las condiciones anteriores, desechando perfectamente el sobrenadante. Los tubos se secaron al aire y se resuspendieron en 10 µl de agua Milli Q.

Transformación en células de E. coli por electroporación: Se mezclaron 40µl de células electrocompetentes (*E. coli* DH5α) con 5µl de DNA plasmídico. Esta mezcla se colocó en una celda de electroporación fría (BIORAD) y se le dio un pulso eléctrico de 2.5 kV durante 5.5 ms usando un electroporador “Micropulser” (BIORAD). Esta mezcla se transfirió a un tubo de ensayo con 1 ml de medio SOC y se incubó durante 2 horas a 37°C en agitación a 200 rpm. Finalmente, 50µl de este cultivo se sembraron en cajas Petri con medio LB solidificado con agar al 1.5% suplementado con ampicilina (100µg/µl) y se incubaron durante aproximadamente 16 horas a 37°C.

Las cepas transformadas se cultivaron en 5 ml de medio LB adicionando con ampicilina y se incubaron a 37°C con agitación a 200 rpm durante toda la noche. Al día siguiente, se tomaron 500 µl de cada cultivo y se inocularon 2 matraces de 250 ml con 50 ml de LB adicionando con el mismo antibiótico. Estos cultivos se incubaron a 37°C en agitación a 200 rpm durante 9 horas. Se tomaron muestras de 1.5 ml de cultivo a las 4 h y 9 h para analizar la expresión de las diferentes fusiones transcripcionales. Posteriormente se procedió a centrifugar todas las muestras durante 2 min a 13,000 rpm, se desechó el sobrenadante y las pastillas obtenidas se lavaron con 700 µl de solución de lavado TDTT (Tris-HCl, pH 7.8 50 mM, y DL-ditiotreitol 30 µM). Después de centrifugar en las mismas condiciones se desechó el sobrenadante y se almacenaron a -20°C. *Cuantificación de la actividad enzimática específica de CAT (Cloranfenicol Acetil Transferasa):* La actividad de la enzima Cloranfenicol Acetil Transferasa fue medida usando una modificación de un método espectrofotométrico. Primero, las pastillas fueron resuspendidas en 500 µl de TDTT y fueron sonicadas durante 3 min en un sonicador “Vibra Cell”, con pulsos de 9.9 entre cada pulso, obteniéndose un tiempo total de sonicación de 6 min. Posteriormente las muestras sonicadas fueron centrifugadas durante 15 min a 14 000 rpm y se transfirió el sobrenadante obtenido a tubos nuevos. Para la cuantificación de las proteínas totales de los sobrenadantes obtenidos se utilizaron placas de cultivo celular de 96 pozos, donde se agregaron por duplicado 10 µl de cada muestra por pozo, utilizando como blanco 10 µl de TDTT. Después se añadió a cada pozo, 200 µl de una mezcla (50:1) de los reactivos del kit “BCA Protein Assay Reagent” (Pierce) y se incubó la placa durante 30 min a 37°C. Posteriormente, se calculó la concentración de proteínas totales mediante la lectura de la absorbancia a 562 nm en un lector automatizado de microplacas tipo CERES 900 C (Bio-Tek Instrumenta Inc.), utilizando el programa KC3. Los valores obtenidos se interpolaron en una curva estándar de concentraciones de la proteína BSA (albúmina de suero de bovino). Para calcular la actividad enzimática de CAT, 5 µl de cada muestra fueron agregados por duplicado en otra placa de cultivo celular de 96 pozos, seguido de 200 µl de una mezcla de reacción de Tris-HCl pH 7.8 0.1 M, DTNB (ácido 5, 5'-ditio-bis (2-nitrobenzoico) 1 mM (Pharmacia Biotech), acetil coenzima A y cloranfenicol 0.1 mM (Sigma). La actividad de CAT se determinó inmediatamente después de agregarse la mezcla de reacción, utilizando el lector de microplacas, tomándose lecturas de absorbancia a 405 nm cada 5 s durante 5 min de reacción. Los valores de actividad obtenidos de cada muestra se interpolaron en una curva estándar de actividad CAT (de 0 a 2 500 U/ml) con el programa KC3. Finalmente, la actividad específica de CAT (µmol/min/mg) se obtuvo al dividir las unidades de actividad de CAT entre la concentración de proteínas totales de cada muestra.

Resultados

Obtención del amplificado SL_1783: una vez amplificada la región de gen SL_1783 por PCR a partir de la cepa *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* SL1344 wt utilizando los cebadores indicados, se verificó la correcta amplificación visualizando en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio y comprobando el peso esperado del amplificado ver figura. 1.

Clonación de la región reguladora del gen SL_1783 en el plásmido pKK232-8: Después de la transformación de los posibles plásmidos recombinantes en células de *E. coli*, éstos se purificaron a partir de diversas colonias transformantes y se comprobó la presencia del inserto en dichos plásmidos mediante la comparación del peso molecular de estos plásmidos con respecto al peso del pKK232-8. Posteriormente, uno de estos plásmidos recombinantes que presentó un mayor peso molecular respecto al pKK232-8 fue mandado secuenciar, confirmando, al realizar el análisis, que la región reguladora del gen SL_1783 se clonó correctamente. El plásmido generado se denominó pSL1783cat y éste será usado en estudios posteriores para analizar la regulación de su expresión genética por HilD.

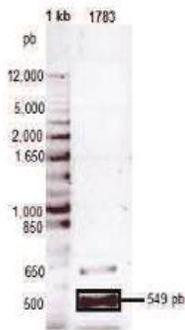


Figura 1. Se observa el gen 1783 amplificado con el peso molecular esperado de 549 pb de acuerdo al marcado de peso molecular 1 kb plus DNA

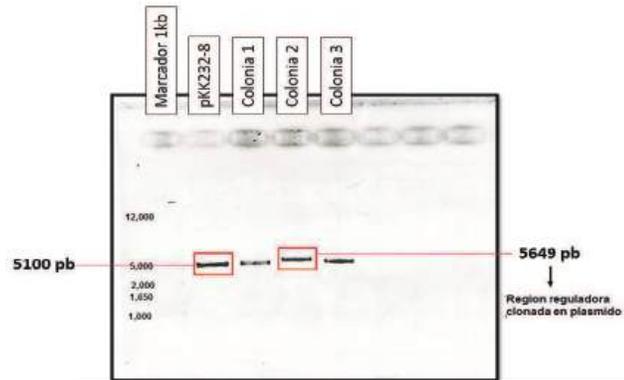


Figura 2. Se muestra como la región reguladora ha sido clonada en el plásmido pKK232-8 mostrando un mayor peso molecular respecto al tamaño del plásmido purificado.

La expresión del gen *phoH* está regulada directamente por HilD: Previamente, en nuestro laboratorio se tenían las fusiones transcripcionales correspondientes al gen *phoH*. En este trabajo, se utilizaron estas fusiones para determinar si la expresión del gen *phoH* está directamente o indirectamente regulada por HilD. utilizando el ensayo de medición de CAT. Así, se encontró que tanto a las 4 h de crecimiento (fase estacionaria temprana) como a las 9 h (fase estacionaria tardía), la actividad enzimática de CAT fue significativamente menor únicamente en la cepa $\Delta hilD$, en comparación con las cepas wt, $\Delta hilA$ y $\Delta invF$ (Fig. 3). Estos datos sugieren que la expresión del gen *phoH* está regulada directamente por la proteína HilD.

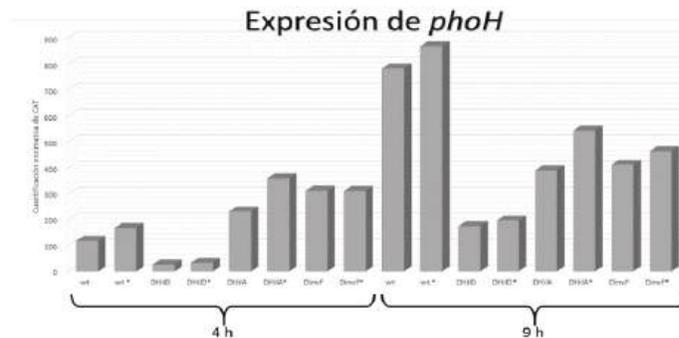
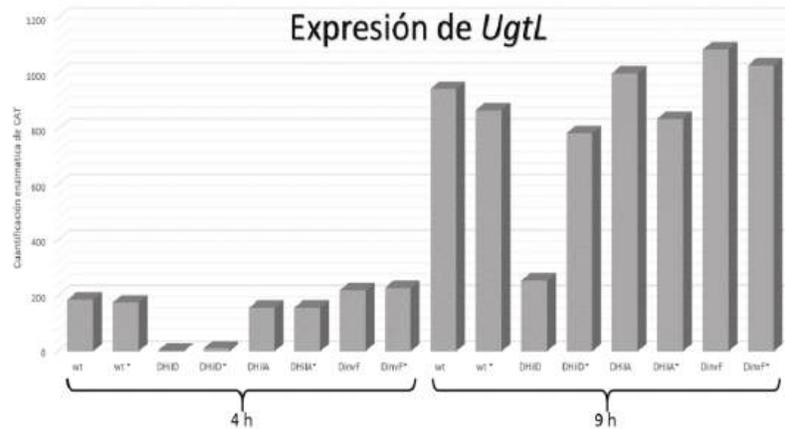


Figura 3. Expresión de *phoF*. La actividad específica de CAT fue determinada en muestras colectadas de cultivos bacterianos crecidos durante 4 horas y 9 horas en LB a 37°C. Los datos son el resultado de la expresión de CAT en diferentes cepas registradas realizadas por duplicado.

La expresión del gen UgtL está regulada directamente por HilD: La actividad enzimática de CAT fue utilizada de igual manera que para el gen anterior para determinar si la expresión del gen *UgtL* es regulada directamente o indirectamente por HilD. Como se puede observar en la Fig. 4, se determinó que el gen *UgtL* es regulado directamente por HilD, ya que al haber ausencia de HilD, la expresión del promotor fue drásticamente disminuida.

Figura 4. Expresión de *UgtL*. La actividad específica de CAT fue determinada en muestras colectadas de cultivos bacterianos crecidos durante 4



horas y 9 horas en LB a 37°C. Los datos son el resultado de la expresión de CAT en diferentes cepas registradas realizadas por duplicado.

Discusión y conclusiones

El estudio de los mecanismos moleculares que regulan la expresión de los genes de virulencia de SPI-1 y SPI-2 es muy importante para conocer a profundidad el mecanismo de patogénesis de *Salmonella*. En estudios previos realizados en este grupo se han hecho contribuciones importantes para esclarecer los mecanismos de regulación de los genes de SPI-1 y SPI-2. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que los genes *phoH* y *ugtL* son regulados directamente por HilD, sugiriendo que la presencia de este regulador transcripcional es fundamental para la expresión de estos genes, mientras que la ausencia de los reguladores *HilA* e *InvF* no altera la expresión de *phoH* o *ugtL*. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que los genes *phoH* y *ugtL* participan en el proceso patogénico de *Salmonella*, ya que son regulados por HilD, el cual es un regulador que activa la expresión de otros genes ya conocidos a estar involucrados en la virulencia de la bacteria. Estudios posteriores enfocados en la generación de cepas mutantes en estos genes y la evaluación de dichas cepas en modelos de infección nos permitirá determinar en qué fase de la infección pudieran participar.

Agradecimientos

Al Dr. Ricardo Oropeza por haber permitido y aceptarme para realizar mi estancia de verano en el instituto y así haber adquirido el conocimiento aprendido en la estancia. Al programa de Verano Delfin por otorgarme la beca para realizar mi estancia y cubrir parte de mis gastos, así como el conocimiento adquirido en esta.

Este proyecto de investigación financiado: “Integración y dinámica de la red de regulación que controla la expresión de los regulones de virulencia SPI-1 y SPI-2 de *Salmonella enterica*” (179071), bajo la convocatoria de Investigación Científica Básica 2012 – CONACYT, por el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2015.

Referencias

- Akbar, S., Schechter, L. M., Lostroh, C. P., & Lee, C. A.** (2003). AraC/XylS family members, HilD and HilC, directly activate virulence gene expression independently of HilA in *Salmonella typhimurium*. *Molecular Microbiology*, 715-728.
- Bustamante, V. H., Santana, L. C., Knodler, F. J., Steele-Mortimer, L. A., & Puente, J. L.** (2008). HilD-mediated transcriptional crosstalk between SPI-1 and SPI-2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 14591-14596.
- Caffer, M., Terragno, R., & Binsztein, N.** (2008). Diagnóstico y Caracterización de *Salmonella*. *WHO Global Salm Surv*, 76.
- Haraga, A., Ohlson, M. B., & Miller, S. I.** (2007). *Salmonella* interplay with host cells. *Nature Reviews*, 14.
- Patel, S., & McCornick, B. A.** (2014). Mucosal inflammatory response to *Salmonella typhimurium* infection. *frontiers in IMMUNOLOGY*, 10.
- Petrone, B. L., Stringer, A. M., & Wade, J. T.** (2014). Identification of HilD-regulated genes in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology*, 9.



Autoexploración mamaria para la detección oportuna de cáncer de mama y su relación con el autocuidado

Lizeth Chopin Delgado (Becario programa Delfin)

lizichopin26@hotmail.com

Unidad Académica de enfermería N° 4. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. María Leticia Rubí García Valenzuela (Asesor)

letyrubigv@yahoo.com.mx

Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo

M.C José Félix Nava Nava (Asesor)

jnavas2_uag@yahoo.com.mx

Unidad Académica de Enfermería N°4. Universidad Autónoma de Guerrero

M.C.E Rosalinda Villa Juárez (Asesor)

rosy_master2@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería N°4. Universidad Autónoma de Guerrero

Resumen

El Cáncer de mama constituye un problema médico, social y económico de gran importancia, por su frecuencia y por afectar a menudo a mujeres en la edad media de vida (década de los 50 años), tiene grandes responsabilidades familiares y económicas. Afecta a 1000 mujeres cada año a nivel mundial y 30 de ellas morirán por esa causa, la incidencia se ha duplicado en los últimos 20 años y continúa en aumento. Con el propósito de Identificar la relación de prácticas de autocuidado y autoexploración mamaria de mujeres en edad reproductiva residentes de áreas sub-urbanas de Morelia Michoacán. Se realizó un: Estudio descriptivo, observacional, prospectivo transversal. La muestra no probabilística por conveniencia, fue de 350 mujeres en edad reproductiva. Se aplicó el instrumentó HPLP-II versión (Walker, Sechrist y Pender, 1995) con variables relacionada con prácticas de autocuidado, los antecedentes personales y reproductivos así como los conocimientos de las mujeres sobre el Ca. de mama. Se elaboró una base de datos para su análisis en SPSS 18.0 Se aplicó estadística descriptiva e inferencial con el diseño de tablas de contingencia. El estudio se basa en la autoexploración mamaria, se estimó que un alto porcentaje de las lesiones de las mamas pueden ser detectadas precozmente por la propia mujer de la población estudiada se encontró que; el 83% sabe cuál es la técnica de la autoexploración y la practicó el 91%, es decir el 8% reconoce no saber la técnica, pero si estar en disposición de revisarse las mamas. El 70% Observa sus mamas y reconoce la presencia de alteraciones que pueden ser objetivas al cáncer de CaMa. Así mismo, el 81% puede identificar alteraciones que conduzcan al CaMa.

Palabras clave: autocuidado, autoexploración mamaria, CaMa

Introducción

El cáncer de mama representa en la actualidad el tipo de cáncer más frecuente y es la segunda causa de muerte entre mujeres de 30 a 54 años (Silva, 2011). Cada año en el mundo ocurren alrededor de un millón de casos nuevos de CaMa; por ello los organismos internacionales, como la organización mundial de la salud y su filial organización panamericana de la salud, destinan gran parte de su presupuesto a la investigación de recursos humanos, difusión adquisición de equipo médico para la búsqueda de mejores alternativas de prevención, detección diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad (Vega, 2014). Existen diversos factores que predisponen la aparición de cáncer de mama entre ellos se encuentra la alimentación, un importante factor vinculado a la ocurrencia del cáncer. (Pou, 2014). Los estudios subsecuentes han ido demostrando que es diferente el riesgo entre mujeres pre y posmenopáusicas (Vega, 2014). Es importante determinar factores de riesgo de cada mujer que acude a la consulta, a pesar de que muchos factores de riesgo no son reversibles por ejemplo, el heredar un gen relacionado con el CaMa ocasiona un riesgo de desarrollar la patología superior al 50%. Pero algunas causas se modifican como el control de peso, reducción del consumo de grasa, prevención de obesidad en el periodo posmenopáusico, el consumo de alcohol, reducción del consumo de hormonas en etapa posmenopausia, otorgar lactancia materna durante al menos 12 meses. La presencia de factores de riesgo de CaMa no significa que el cáncer es inevitable: muchas mujeres con factores de riesgo nunca desarrollan CaMa porque depende también del autocuidado de la mujer (González, 2013). Es conveniente que durante la elaboración de la historia clínica de la mujer se tengan todos los factores de riesgo ya demostrados por la literatura, para incidir en los casos susceptibles de modificar como el peso, IMC, perímetro abdominal, y especialmente la autoexploración mamaria y la revisión médica periódicamente, para la detección temprana a las mujeres con altas probabilidades de cáncer, y ofrecerles un tratamiento oportuno (Vega, 2014).

De este modo, a pesar de que existen programas de educación para la salud en el Estado de Michoacán, y la recomendación de estilos de vida saludables, más específicamente enfocados a la prevención de cáncer y la autoexploración de mama, la información existente de las acciones de enfermería no es suficiente, para el fortalecimiento de los programas de salud, es conveniente la generación de nuevos y más vastos conocimientos, acerca de las estrategias de cuidado y apoyo a las mujeres en general, sobre las conductas saludables y las prácticas de autocuidado para la detección oportuna tratamiento adecuado, así mismo, con el propósito de Identificar la relación de prácticas de autocuidado y autoexploración mamaria de mujeres en edad reproductiva residentes de áreas sub-urbanas de Morelia Michoacán. Se plantea el presente estudio descriptivo, observacional, prospectivo y transversal. La muestra no probabilística por conveniencia, fue de 350 mujeres en edad reproductiva.

Metodología

Estudio de abordaje cuantitativo, transversal y descriptivo. Prospectivo Con una muestra no probabilística por conveniencia de 350 mujeres en edad reproductiva con el objetivo de identificar las variables de autocuidado que aplican, para la detección oportuna del cáncer de mama. La colecta de los datos se realizó a través de la aplicación de un instrumento diseñado con variables de datos socio-demográficos, antecedentes Gineco-obstétricos y prácticas relacionadas con el autocuidado que realizan las mujeres en edad reproductiva. El análisis y procesamiento de los datos se realizó en el paquete estadístico SPSS (Versión 20), aplicando correlación Bivariada de Pearson

para identificar el comportamiento de las variables y estadísticos descriptivos, tablas de contingencia, frecuencias y porcentajes.

Resultados

La variable, *edad* del primer nacimiento tuvo una correlación positiva y buena (0.609) con la variable *tiempo aproximado de lactancia materna*, esto significa que la edad favorece la lactancia materna. De igual forma la variable *Edad del primer nacimiento* tuvo una correlación buena (0.597) con la variable *lactancia materna* esto significa que conforme a la edad del primer nacimiento será la primera lactancia materna y de acuerdo a eso será favorable o no a la aparición de cáncer de mama (ver cuadro 1):

Cuadro 1. Correlaciones de variables de autocuidado y exploración mamaria.

	Tiempo aproximado de lactancia materna	Lactancia materna	Edad del primer nacimiento	Para	Gesta
Sigo un programa de ejercicios planificados Creo que mi vida tiene un propósito					
Edad del primer nacimiento	.609**	.597**		.666**	
Lactancia materna	.546**		.597**	.518**	.534**
Tiempo aproximado de lactancia materna		.546**	.609**	.486**	.518**
Gesta			.603**		
para			.666**		.534**

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)

Entre las variables, *lactancia materna* y tiempo aproximado de lactancia materna hubo una buena (0.546) correlación esto demuestra que dependiendo cuando proporcionó su primer lactancia materna y *el tiempo de lactancia* será propensa o no a padecer cáncer de mama, esto se muestra en el cuadro uno.

Tablas de contingencia.

Los resultados se analizaron en tablas de contingencia y se encontró que; el 83% sabe cuál es la técnica de la autoexploración y la práctica el 91%, es decir el 8% reconoce no saber la técnica, pero si estar en disposición de revisarse las mamas. El 70% Observa sus mamas y reconoce la presencia de alteraciones que pueden ser objetivas al cáncer de mama. Así mismo, el 81% puede identificar lo que es el cáncer de mama y de éstas, sólo el 57% observa sus mamas para identificar alteraciones.

Discusión

Perez⁵ considera que existe evidencia que las mujeres que poseen conocimientos sobre la salud de la mama conocen las características normales de estas por lo que tienen mayor probabilidad de detectar una lesión y solicitar atención inmediata si perciben algo anormal, sin embargo el resto de población no cuentan con los conocimientos por lo que el personal de enfermería debe buscar estrategias para que las mujeres restantes conozcan acerca de la enfermedad.

La NOM 041-SSA2-2002⁶ menciona que la vida menstrual de más de 40 años y menopausia tardía (después de los 52 años) son factores de riesgo de mayor peso para desarrollar Cáncer de Mama. Lo que indica que esta población tiene un factor importante para desencadenar la enfermedad. De acuerdo a las variables edad de la primera menstruación y edad de la mujer cuando nació su primer hijo un poco más de la mitad inicio su menarquía de 12 y 13 años de edad. Hernández⁷ menciona que las mujeres jóvenes que empezaron su menstruación antes de los 12 años, están expuestas a un riesgo mayor de cáncer de seno, con lo cual establece un mayor tiempo de exposición a los estrógenos endógenos.

Sin embargo en la población estudiada la edad que tenía la mujer cuando nació su primer hijo fue de 18 a 22 años, se ha demostrado que mujeres que tuvieron su primer embarazo a los 30 años tienen 2 a 5 veces más riesgo de desarrollar Cáncer de Mama que aquellas cuyo primer embarazo a término ocurrió a los 18 años, probablemente este hecho esté relacionado con el proceso de maduración del tejido mamario el cual comienza con el primer embarazo.⁷

De acuerdo a lo mencionado anteriormente la población estudiada tiene menor riesgo de padecer cáncer de mama. Por otra parte, el autoexamen de mama ha sido puesto a juicio debido a que no se ha demostrado en forma específica su relación con la disminución de la mortalidad por cáncer de mama, en estudios realizados en los Estados Unidos de América del Norte³. Sin embargo es una práctica que aún se promociona.

Un poco menos de la mitad de las mujeres de población de estudio se realizan la autoexploración mamaria en un intervalo de 1 a 3 meses, para esto la NOM-041-SSA2-2002⁶, menciona que la autoexploración se deberá recomendar en forma mensual a partir de la menarca; entre el 7o. y 10o. día de iniciado el sangrado en la mujer menstruante y en la posmenopáusica se debe realizar en un día fijo elegible por ella, cabe mencionar que la tercera parte nunca se ha realizado la autoexploración por lo que hace falta programas que actúen como facilitadores creando conciencia sobre la importancia de llevarla a cabo.

Existe una alta asociación entre las variables revisar sus mamas con frecuencia y tocarlas para detectar bultos o anomalías, Sánchez³ dice que el autoexamen de las mamas es otro de los

pilares fundamentales para la detección precoz de procesos tumorales lo cual es una forma efectiva y sencilla de encontrar los cambios precoces que se producen en la glándula mamaria que son indicativos de enfermedad tumoral. En base a esta referencia la población de estudio refiere tener mayor tendencia a revisar y tocar sus mamas para detectar alguna anomalía.

Conclusiones

Más de la mitad de la población de estudio tiene conocimientos sobre la enfermedad, sin embargo el resto no los tiene, lo que es una área de oportunidad para que el personal de salud proponga y aplique estrategias para revertir los resultados y que un mayor porcentaje de las mujeres tenga conocimientos sobre este problema de salud y qué puede hacer ella para detectarlo oportunamente. Existen diversos procedimientos para el diagnóstico del cáncer de mama, entre ellos y en el que se basa el estudio es la autoexploración mamaria, un método de gran importancia mediante el cual se estima que un alto porcentaje de las lesiones de las mamas pueden ser detectadas precozmente por la propia mujer, de la población estudiada se encontró que; el 83% sabe cuál es la técnica de la autoexploración y la práctica el 91%, es decir el 8% reconoce no saber la técnica, pero si estar en disposición de revisarse las mamas. El 70% Observa sus mamas y reconoce la presencia de alteraciones que pueden ser objetivas al cáncer de mama. Así mismo, el 81% puede identificar lo que es el cáncer de mama y de éstas, sólo el 57% observa sus mamas para identificar alteraciones. Los resultados permiten identificar áreas de oportunidad en el cuidado de enfermería para fortalecer el autocuidado relacionado a la detección oportuna del cáncer de mama.

- A mayor edad del primer nacimiento mayor tiempo aproximado de lactancia materna.
- A mayor edad del primer nacimiento sí dio lactancia materna.
- A mayor lactancia el tiempo aproximado de lactancia es mayor

Bibliografía

Hernández SI, González SY, Heredia BLY, Heredia CAA, Conde MM, Aguilar OS. Intervención educativa sobre detección precoz del cáncer de mamas. [Revista en línea] 2011 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 15 (3). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1025-02552011000300007>.

Yépez RD, De la Rosa AG, Guerrero AC, Gómez MJM. Autoexploración mamaria: conocimiento y perspectiva en mujeres. Revista Enfermería Instituto Mexicano Seguro Social. [Revista en línea] 2012 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 20 (2): [79-84]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/enfermeriaimss/eim-2012/eim122d.pdf>.

Quadratín. Agencia Mexicana de Información y Análisis. (Fecha de aceptación 14 De junio de 2011). [Acceso 11 de julio de 2014]. Disponible en: <http://www.quadratín.com.mx/sucesos/Aumentan-muertes-por-cancer-de-mama-en-Michoacan/>.

Pérez ZSE, López RAL, Benítez CLÁ, Sandoval AIL. Conocimientos y comportamientos sobre factores de riesgo de cáncer de mama en un grupo de mujeres. Revista Enfermería Universitaria. [Revista en línea] 2011 [Acceso 11 de Julio de 2014];8 (1). Disponible en: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/reu/article/view/25468>.

- Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2002, Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama (NOM NOM-041-SSA2-2002). Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/041ssa202.html>
- Hernández D, Borges R, Betancourt L. Cáncer de mama en mujeres jóvenes, evaluación de los factores de riesgo. Revista Venezolana Oncología. [Revista en línea] 2011 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 22 (4): [216-221].
- Gutiérrez DA, Gutiérrez FFR, Gutiérrez CJC, Guzmán DF, Santander LA. Conocimiento, actitud y práctica del autoexamen mamario en mujeres estudiantes de medicina de la Universidad Mayor de San Simón gestión 2011. Revista Científica Ciencias Médicas. [Revista en línea] 2012 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 15 (2): [22-25].
- Guía de práctica clínica: Prevención, tamizaje y referencia oportuna de casos sospechosos de Cáncer de mama en el primer nivel de atención. México: Instituto Mexicano De Seguro Social, 2011.
- Guzmán GM. Cuidados de enfermería en una paciente con cáncer de mama. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 2010.
- Vivas SVM, Torres PN, Esguerra GLL, Torres SCA, Mojica TIC, Mendoza JKC, Rayón NMC. Conocimientos, actitudes y prácticas de prevención del cáncer de mama. Revista Cien del cuidado. [Revista en línea] 2012 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 9 (2).
- Padrón GJ, Padrón FL, Padrón FL, Morejón GA, Benet RM. Comportamiento del diagnóstico precoz del cáncer de mama y cérvico uterino en el municipio Cienfuegos. Revista Finlay. [Revista en línea] 2013 [Acceso 11 de Julio de 2014]; 3 (2).



Alcance de los determinantes positivos en el apego terapéutico de la Diabetes mellitus tipo 2

María Azucena Melquiadez Cruz (Becario Programa Delfín)

Unidad Académica de Enfermería No. 3. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. María Refugio Patiño Moreno (Asesor)

cuquipm@yahoo.com.mx

Escuela de Enfermería y Salud Pública. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Introducción

La Diabetes mellitus tipo II, es definida como un conjunto de síndromes hiperglucémicos debido a que las acciones de la insulina no se llevan a cabo, principalmente la entrada de glucosa a nivel celular, afectando principalmente a personas con obesidad de tipo central y personas con disposición genética. Las complicaciones de la Diabetes Mellitus tipo II, son múltiples y entre ellas podemos encontrar cardiopatía isquémica, insuficiencia renal, amputaciones no traumáticas, coma hiperosmolar no cetósico y neuropatía, dichas complicaciones se presentan cuando no existe un apego al tratamiento por parte de los pacientes, disminuyendo sus años de vida y deteriorando la calidad de los mismos. La presente investigación pretende identificar los determinantes considerados como positivos y analizar su alcance en el apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarímbaro, Michoacán. Las preguntas de investigación planteadas ¿Cuál es el alcance de los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, para mantener su apego terapéutico? Los objetivos fueron, identificar los determinantes que son considerados como positivos, para conservar el apego terapéutico, por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, y analizar el alcance de los determinantes considerados como positivos en el apego terapéutico, por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarímbaro, Michoacán.

Metodología

Los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, son importantes para mantener su apego terapéutico. Las variables dependientes son: apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II., e independientes: los determinantes positivos. El tipo de estudio fue transversal descriptivo con un abordaje de análisis cuantitativo; el procedimiento consistió en medir un grupo de personas y en este caso, dos variables proporcionando su descripción y se establecieron los aspectos de: población, muestra, límites, materiales y el procedimiento. Se elaboró un cuestionario con 9 ítems de respuesta dicotónica para la recolección de datos importantes para esta investigación por parte de los pacientes con Diabetes mellitus tipo II, en control. Posteriormente se realizó la tabulación de la información recolectada, en tablas para facilitar el trabajo de validación estadística y su evaluación. Con el uso del paquete estadístico SPSS 21, efectuamos el análisis estadístico y evaluación de la información, arrojándonos resultados que aprueban la hipótesis de investigación.

Resultados

La participación en el estudio en cuanto al sexo, fueron entrevistados 24 mujeres y 6 hombres, en cuanto a la distribución por edad fue en el rango de 60 a 69 años, seguido por 50 a 59, tiempo de evolución de la enfermedad 13 individuos refieren más de 5 años, y 12 de ellos de 1 a 3 años. El 83% refieren conocer el nombre de sus medicamentos y el 87% conoce las 3 medidas para su control, 87% refieren refieren medidas de higiene, las enfermedades crónicas concomitantes solo el 67%, solo el 93% conoce los alimentos permitidos, 73% tiene apoyo familiar y familiares con Diabetes

Conclusión

En el presente estudio se logró alcanzar los objetivos establecidos, esto significa que hemos podido identificarlos determinantes considerados como positivos y analizar su alcance en el apego terapéutico por parte de las personas con Diabetes mellitus tipo II, que asisten al Centro de Salud Urbano del municipio de Tarimbaro, Michoacán.

Los determinantes considerados como positivos por las personas entrevistadas con Diabetes mellitus tipo II son: El tener pleno conocimiento sobre la Diabetes mellitus tipo II, por parte de los pacientes entrevistados, esto se debe a que el personal de salud se ha encargado de concientizar, motivar, orientar y dar información adecuada al paciente. La conciencia que tienen los pacientes entrevistados sobre lo importante que es cuidar su salud y las consecuencias que esto conlleva. Esto ha permitido a que los pacientes entrevistados se apeguen a su tratamiento.

El siguiente determinante positivo, considerado por las personas entrevistadas, es el conocer las 3 medidas básicas. Los pacientes entrevistados mencionaron no solo conocer las 3 medidas básicas, sino, que también las llevan a cabo, por lo que mantienen una alimentación sana para el diabético, realizan ejercicio moderado diariamente y toman sus medicamentos a la hora indicada. Los pacientes entrevistados también comentaron que al realizar estas 3 medidas básicas, se sienten sanos y mantienen sus niveles de glucosa estables. Para las personas entrevistadas, otro determinante positivo es conocer y aplicar las medidas higiénicas de los pies del diabético, mediante una buena limpieza, revisión diaria de sus pies y tratar de usar calzado cómodo para reducir el riesgo del pie diabético. Respecto a la alimentación, los pacientes entrevistados tienen como determinante positivo, el conocer los alimentos permitidos. Los pacientes mencionaron consumir principalmente verduras, poca cantidad de frutas dulces, algunos cereales, beber de 1 a 3 litros diarios de agua y evitar el consumo de carnes rojas y alimentos grasosos. Otro determinante positivo que refirieron los pacientes es contar con el apoyo de algún familiar o cualquier otra persona cercana a ellos. Esto se debe a que los familiares se involucran de forma emocional y económica, mostrándose interesados en el control de la enfermedad del paciente. Y las personas no consanguíneas de los pacientes entrevistados, ayudan a dichos pacientes en su autoestima cuando les hablan acerca de que deben sentirse independientes de su enfermedad. El tener un familiar que presente la misma enfermedad, es un determinante positivo para los pacientes entrevistados, porque son orientados por dicho consanguíneo sobre los cuidados especiales que deben seguir y como mantenerse disciplinados en la toma de sus medicamentos. Por último, la independencia y la autoestima también son consideradas como determinantes positivos por los pacientes entrevistados, ya que se sienten capaces de seguir un tratamiento terapéutico por sí mismos. Los pacientes entrevistados con Diabetes mellitus tipo II, refirieron lograr mantener sus niveles de glucosa en cifras normales, a causa del impulso que representan los determinantes positivos para estos pacientes, siendo necesarios para el apego a su tratamiento. De esta manera los pacientes han evitado posibles complicaciones a futuro de la Diabetes Mellitus tipo II, y por ende, han prolongado sus años de vida y mejorado la calidad de los mismos. Por lo tanto, esta investigación concluye que los determinantes considerados como positivos, por las personas con Diabetes mellitus tipo II, han actuado de forma sinérgica, teniendo un alcance importante en el apego terapéutico por parte de los pacientes. Por lo cual, queda comprobada la hipótesis de investigación.

Referencias

- ALAD. (2000). Guías ALAD de Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Recuperado de <http://alad-latinoamerica.org/phocadownload/guias%20alad.pdf>
- American Diabetes Asociación. (2014). Diagnóstico y clasificación de la Diabetes Mellitus. Cuidado de la Diabetes, 37(7), 81-90. Recuperado de http://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S/S8/T3.expansion.html
- Blackshear, P. (2000). Medicina Interna. Argentina: Médica Panamericana.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Capacitación para el diagnóstico de los trastornos temporomandibulares con los criterios de diagnósticos para los trastornos temporomandibulares

Saudi Sánchez Jiménez (Becario Programa Delfín)

idas_93@hotmail.com

Unidad Académica de Odontología. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Irene Aurora Espinosa de Santillana (Asesora)

ireneaurora@hotmail.com

Facultad de Estomatología. Benemérita Autónoma de Puebla

Resumen

Los trastornos Temporomandibulares son un conjunto de alteraciones que afectan la musculatura masticatoria, la articulación temporomandibular y otras estructuras asociadas al sistema estomatognático como los músculos que ponen en movimiento la articulación, entre ellos (masetero, temporal, pterigoideo lateral, pterigoideo medial y digástrico) y la columna cervical, estructura supra e infrahioidea, hombros, columna torácico y lumbar que actúan como una biomecánica. Los trastornos de la articulación y de los músculos masticatorios varían enormemente, al igual que la forma en que cada individuo responde a ellos. Provocando que Los TTM afecten de un 5% a 12% de la población y alrededor del 93% de la población general ha presentado en determinado momento algún signo y/o síntoma relacionado con los TTM. He ahí la importancia de que el profesional sepa como diagnosticar los problemas que puedan producir los TTM, con la aplicación adecuada y capacitada de los criterios de diagnósticos para los trastornos temporomandibulares, facilitan el diagnostico eficaz y seguro al paciente que pueda o no padecer dichos trastornos.

Palabras clave: Trastornos Temporomandibulares (TTM), alteraciones, articulación, y músculos masticatorios.

Introducción

Los trastornos Temporomandibulares son un conjunto de alteraciones que afectan la musculatura masticatoria, la articulación temporomandibular y otras estructuras asociadas al sistema estomatognático. Los TTM afecta de un 5% a 12% de la población. Asimismo, los datos indican que las pacientes femeninas presentan sintomatología más frecuente y de mayor gravedad, así como mayor tendencia a la cronicidad. Cabe destacar, con todo, la dificultad que entraña establecer la prevalencia e incidencia de los TTM debido a la diversidad de criterios diagnósticos utilizados en los distintos estudios epidemiológicos donde su existencia etiológica es multifactorial. Se caracterizan clínicamente por dolor en los músculos de la masticación, el área preauricular o directamente en la articulación, con frecuencia suelen generar ruidos articulares como crepitación y/o chasquidos. Su etiología es multifactorial basada en factores biopsicosociales. El diagnóstico adecuado de los TTM puede establecer de forma inmediata y oportuna el diagnóstico y un plan de tratamiento correcto para restaurar o limitar el daño de la articulación y de los elementos del aparato

estomatognático. El tratamiento para los trastornos temporomandibulares va desde simples prácticas de autocuidado, tratamiento conservador, hasta la cirugía. La mayoría de los expertos coinciden en que se debe iniciar el tratamiento con terapias conservadoras dejando como último recurso el tratamiento quirúrgico. Alrededor del 93% de la población general ha presentado en determinado momento algún signo y/o síntoma relacionado con los TTM, que afectan las actividades del individuo, el funcionamiento psicosocial y la calidad de vida. El costo de atención de los TTM anual en los EE.UU., en la última década ha sido de \$ 4 mil millones de dólares, por ello es necesario contar con instrumentos válidos y confiables para diagnosticar de forma fiable este padecimiento. Desafortunadamente por falta de capacitación y estandarización de los profesionales, en el uso de éstos instrumentos (Criterios Diagnósticos, CD/TTM) pudieran disminuir la validez y confiabilidad reportada. El objetivo fue capacitar al alumno para establecer el diagnóstico de los TTM en pacientes de las clínicas de Cirugía Bucal.

Metodología

En la capacitación para el diagnóstico de los TTM, inicialmente fue necesaria la revisión de la bibliografía que existe al respecto (libros, artículos, y exposiciones) para conocer, implementar y dominar el uso de los CD/TTM propuestos por Shiffman en 2005. Durante la segunda parte de la capacitación de los CD/TTM se examinaron dos compañeros del equipo que se sometió a la capacitación previamente contestado un cuestionario de síntomas y con el uso del instrumento de la evaluación de criterios de diagnóstico de los trastornos temporomandibulares, basado en una serie de comandos y preguntas, que son de utilidad para evidenciar si el paciente padece o no de alguna de estas alteraciones, dicha evaluación está dividida en la presencia o ausencia de dolor, que a partir , se examina en cada sección de la evaluación si hay presencia de dolor muscular en las áreas específicas, si el paciente puede o no abrir su boca lo suficiente para poder ser evaluado, tomando parámetros de dolor y/o cefaleas según el caso, con el reconocimiento paciente /evaluador de presencia de ruidos o chasquidos o si el paciente pudo haber tenido algún problema en otras áreas asociadas a la Articulación Temporomandibular (ATM) y/o músculos de la masticación, dichos puntos a evaluar son considerados importantes para el diagnóstico. Posteriormente dos pacientes fueron evaluados con los CD/TTM por dos evaluadores independientes para establecer el diagnóstico mediante una serie de preguntas y comandos establecidos que facilitan la operación y la exploración física por medio de la palpación y empleo de instrumentos de medición específicos para registrar los valores emitidos durante los movimientos mandibulares del paciente. Finalmente se evaluaron tres pacientes más y se siguió la misma mecánica de uso. Los resultados emitidos por los diferentes evaluadores fueron contrastados y se analizaron las principales discrepancias y concordancias en los diferentes registros de las medidas de apertura y desplazamientos mandibulares, de la presencia de ruidos articulares, sitios musculares doloridos, así como el establecimiento del diagnóstico de TTM.

Resultados

En el primer día de capacitación durante la evaluación diagnóstica de los TTM por los CD/TTM, predominó la concordancia en los movimientos y medida de valores de apertura y cierre de la mandíbula, se identificó en uno de los pacientes presento algún tipo de ruido articular unilateralmente con presencia de dolor a la palpación. En el segundo día los diagnósticos, se observaron discrepancias en la detención de ruidos articulares o chasquidos en la ATM de los pacientes puesto que no siempre manifestaban el ruido haciendo que disminuyera la fiabilidad en los resultados, sin haber presenciado luxación articular, en la misma evaluación los movimientos mandibulares con sus respectivas mediciones entraron en un rango similar, se presentó en un paciente sintomatología de dolor en zonas musculares masticatorias y ATM, se hizo un análisis con el cuestionario de síntomas previamente hecho a los pacientes para corroborar resultados. Finalmente en la última etapa de capacitación hubo menos margen de error al evaluar con los CD/TTM, la discrepancia con mayor prevalencia en los resultados se presentó en la detención de ruidos articulares de la ATM, ya que no siempre fueron identificados por los evaluadores o los mismos pacientes que producían el ruido y otras no, los dolores en zonas musculares fueron muy escasas pero presentes sin embargo no presentaban alguna gravedad que pudiera atribuir como padecimiento de los TTM o impedir el desarrollo de la evaluación. En algunos pacientes el diagnóstico fue definitivo y absoluto por lo tanto no presentaron riesgo de padecer TTM. Todas las los resultados emitidos en la aplicación de los CD/TT fueron comparadas con el cuestionario de síntomas para confirmar si existiera o no alguna discrepancia. El uso del árbol de diagnóstico de los CD/TTM determino el posible diagnóstico.

En el siguiente cuadro se muestra el cuestionario de síntomas de los criterios de diagnósticos para los trastornos temporomandibulares, antes de ser evaluados con los CD/TTM, tenía previamente haber contestado individualmente los pacientes. Con el fin de comparar la evaluación con el cuestionario y corroborar si los resultados concuerdan con lo que el paciente haya expresado en el cuestionario de síntomas, fortaleciendo la exactitud en los diagnósticos.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS PARA TRASTORNOS TEMPOROMANDIBULARES CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS	
NOMBRE DEL PACIENTE	FECHA
DOLOR	
1. ¿Ha tenido dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
Si su respuesta fue NO entonces salte a la pregunta 5	
2. ¿Hace cuántos años o meses atrás comenzó su dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos?	
Años _____ meses _____	
3. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor cualquier dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados en los últimos 30 días?	
Seleccione UNA respuesta <input type="radio"/> Sin dolor <input type="radio"/> Dolor que aparece y desaparece <input type="radio"/> El dolor está siempre presente	
Si su respuesta fue NO a la pregunta 3 entonces salte a la pregunta 5	
4. ¿Las siguientes actividades han cambiado el dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados en los últimos 30 días (es decir lo ha mejorado o empeorado)?	
A. Masticar comida de consistencia dura <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
B. Abrir su boca o mover su mandíbula hacia adelante o hacia los lados <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
C. Hábitos mandibulares como mantener los dientes juntos, apretar/rechinar los dientes o masticar chicle <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
D. Otras actividades mandibulares tales como hablar, besar o bostezar <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
CEFALEA	
5. ¿Ha tenido cualquier cefalea (dolor de cabeza) que incluya las áreas temporales de la cabeza en los últimos 30 días?	
<input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
Si su respuesta fue NO a la pregunta 5 entonces salte a la pregunta 8	
6. ¿Hace cuántos años o meses atrás comenzó por primera vez su cefalea (dolor de cabeza) en el área temporal? Años _____ meses _____	
7. ¿Las siguientes actividades han cambiado su cefalea en el área temporal en cualquiera de los dos lados, en los últimos 30 días (es decir la han mejorado o empeorado)?	
A. Masticar comida de consistencia dura <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
B. Abrir su boca o mover su mandíbula hacia adelante o hacia los lados <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
C. Hábitos mandibulares tales como mantener los dientes juntos, apretar/rechinar los dientes o masticar chicle <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
D. Otras actividades mandibulares tales como hablar, besar o bostezar <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí	
SONIDOS ARTICULARES MANDIBULARES	
8. ¿Ha tenido cualquier sonido articular mandibular cuando mueve o utiliza su mandíbula en los últimos 30 días? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
BLOQUEO CERRADO DE LA MANDÍBULA	
9. ¿Ha tenido alguna vez su mandíbula bloqueada o atrapada, aún por un solo momento, es decir que no pudiera abrir TOTALMENTE LA BOCA? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
Si respondió NO a la pregunta 9, entonces salte a la pregunta 13	
10. ¿Fue el bloqueo o atrapamiento de su mandíbula lo suficientemente severo para limitar su apertura mandibular e interferir con su habilidad para comer? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
11. ¿Ha tenido su mandíbula bloqueada o atrapada, aún por un solo momento, es decir que no pudiera abrir TOTALMENTE LA BOCA en los últimos 30 días? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
Si respondió NO a la pregunta 11, entonces salte a la pregunta 13	
12. ¿Está su mandíbula bloqueada o atrapada actualmente, de manera que no puede ABRIR TOTALMENTE LA BOCA? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
BLOQUEO ABIERTO DE LA MANDÍBULA	
13. ¿Cuando abrió su boca ampliamente en los últimos 30 días, su mandíbula se bloqueó o atrapó aún por un momento, de manera que no pudo cerrarla desde esa posición de máxima apertura? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
Si su respuesta fue NO a la pregunta 13, entonces ya has terminado	
14. ¿Cuando su mandíbula se bloqueó o atrapó en una apertura amplia en los últimos 30 días, tuvo que hacer algo para poder cerrarla incluyendo: descansar, moverla, empujarla, o manipularla? <input type="radio"/> No <input type="radio"/> Sí <input type="radio"/> No sabe <input type="radio"/> R <input type="radio"/> L	
Demográficos	
¿Cuál es su estatus de pareja actual? <input type="radio"/> Casado <input type="radio"/> Viviendo como casado <input type="radio"/> Divorciado <input type="radio"/> Separado <input type="radio"/> Viudo <input type="radio"/> Nunca se ha casado	
¿Cuál es su origen étnico? Hispano o latino <input type="radio"/> No hispano o latino <input type="radio"/> Desconocido <input type="radio"/>	
¿Cuál es su raza? Marque todas las necesarias <input type="radio"/> Indoamericano <input type="radio"/> Nativo de Alaska <input type="radio"/> Asiático <input type="radio"/> Negro o Afroamericano <input type="radio"/> Nativo Hawaiano u otra isla del pacífico <input type="radio"/> Blanco <input type="radio"/>	
¿Cuál es el máximo grado de estudios que ha completado? <input type="radio"/> Secundaria o menos <input type="radio"/> Preparatoria <input type="radio"/> Licenciatura <input type="radio"/> Posgrado	
¿Cuál es el ingreso anual de la familia? Por favor incluya todas las fuentes de ingreso de todos los miembros de la familia, tales como: salarios, ganancias, inversiones	

Paciente: _____ Evaluador: _____ Fecha de evaluación: (dd-mm-aaaa) _____

1a. Localización del dolor: En los últimos 30 días (seleccionar todas las que apliquen)

DOLOR DERECHO

Ninguno Temporal Intermitente Continuas Escasas No manifestadas

DOLOR IZQUIERDO

Ninguno Temporal Intermitente Continuas Escasas No manifestadas

1b. Localización de la cefalea: En los últimos 30 días (seleccionar todos los que apliquen)

Ninguno Temporal Otros

2. Relaciones incisales: Punto de referencia: II JJ Otro: _____

Sobre mordida: Negativa Positiva Sobre mordida vertical Negativa Positiva Intermedia Intermedia Intermedia

3. Patrón de apertura (Complementaria): Selecciona uno

Recto Desviado a la derecha Desviado a la izquierda

4. Movimientos de apertura:

A. Apertura sin dolor

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

B. Apertura indolora (no asistida)

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

C. Apertura e indolora asistida

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

D. Indolora asistida

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

5. Movimientos laterales y protrusivos

A. Lateralidad Derecha

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

B. Lateralidad Izquierda

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

C. Protrusión

	LADO DERECHO			LADO IZQUIERDO		
	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar	Dolor	Cefalea familiar	Cefalea familiar
Temporal	<input type="radio"/>					
Masetero	<input type="radio"/>					
ATM	<input type="radio"/>					
Otros músic. M.	<input type="radio"/>					
No-muscl.	<input type="radio"/>					

Negativo

EVALUACION CLINICA DE LOS CD/TTM

2° Día: Hubo concordancia en la localización de dolor y cefalea junto con la relaciones incisales de los pacientes, solo 1 paciente se encontró positivo la presencia de dolor.

3° Día: En dos de tres pacientes evaluados se localizó presencia de dolor.

2° Día: En las evaluaciones de los movimientos de apertura, cierre y lateralidad, reflejaron similitud. Solo un evaluador registro presencia de dolor. Al evaluar existió menos margen de error en los resultados. 3° Día: se encontró mayor prevalencia de dolor en los movientes de apertura, lateralidad y de protrusión. Durante la evaluación se presentó concordancia, al registrar que en 2 pacientes, hubo existencia de dolor en casi todos los movimientos mandibulares, pero no en todas las áreas examinadas. Hubo discrepancias al registrar los rangos de apertura, lateralidad y protrusión en el tercer día, esto comúnmente en la primera y última evaluación. Se encontró inconsistencias en una evaluación, puesto que el evaluador señaló erróneamente encontrar cefalea familiar en todos los movimientos, pero sin haber presenciado otro tipo dolor.

6. Ruidos articulares durante los movimientos de apertura y cierre									
ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA				
Evaluador	Paciente	Chasquido con dolor	Dolor familiar		Evaluador	Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar	
Apertura	Chasquido	Chasquido	Chasquido		Apertura	Chasquido	Chasquido	Chasquido	
Cierre	Chasquido	Chasquido	Chasquido		Cierre	Chasquido	Chasquido	Chasquido	
	Crepitación	Crepitación	Crepitación			Crepitación	Crepitación	Crepitación	

7. Ruidos de la ATM durante los movimientos de Lateralidad y Protrusión									
ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA				
Evaluador	Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar		Evaluador	Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar	
Lateralidad	Chasquido(click)	Chasquido(click)	Chasquido(click)		Lateralidad	Chasquido(click)	Chasquido(click)	Chasquido(click)	
Protrusión	Chasquido(click)	Chasquido(click)	Chasquido(click)		Protrusión	Chasquido(click)	Chasquido(click)	Chasquido(click)	
	Crepitación	Crepitación	Crepitación			Crepitación	Crepitación	Crepitación	

8. Bloqueo (luxación) articular									
ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA				
Evaluador	Paciente	Evaluador	Paciente		Evaluador	Paciente	Evaluador	Paciente	
Luxación	Luxación	Luxación	Luxación		Luxación	Luxación	Luxación	Luxación	
Reducción	Reducción	Reducción	Reducción		Reducción	Reducción	Reducción	Reducción	
Durante apertura	Durante apertura	Durante apertura	Durante apertura		Durante apertura	Durante apertura	Durante apertura	Durante apertura	
En máxima apertura	En máxima apertura	En máxima apertura	En máxima apertura		En máxima apertura	En máxima apertura	En máxima apertura	En máxima apertura	

9. Dolor muscular y de ATM con la palpación									
	LADO DERECHO				LADO IZQUIERDO				
	Dolor	Dolor familiar	Cefalea familiar	Dolor referido	Dolor	Dolor familiar	Cefalea familiar	Dolor referido	
1.1 Kg									
Temporal (posterior)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Temporal (medio)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Temporal (anterior)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Masetero (origen)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Masetero (cuerpo)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Masetero (inserción)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
ATM									
Polo lateral (0.5 kg)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Alrededor del polo lateral (1 kg)	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
10. Músculos complementarios (0.5 Kg)									
Región mandibular posterior	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Región submandibular	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Área del pterigoideo lateral	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	
Tendón del temporal	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	

13. Comentarios									

En esta segunda parte de la evaluación se presentaron discrepancias con mayor prevalencia al detectar ruidos articulares generados durante los movimientos de apertura, cierre, lateralidad y protrusión, ya que no siempre fueron identificados por los evaluadores o los mismo pacientes. Esto pudiera ser por el hecho de que los pacientes presentan el ruido de forma inconsistente. Solo un paciente dio muestra de dolor al momento de la palpación.

Conclusión

La capacitación de diagnóstico de los TTM aumenta la concordancia de los resultados emitidos con el uso de los CD/TTM. Dichos resultados son fiables y seguros.

Agradecimientos

Al equipo de investigación formado por alumnos selectos de diversas universidades del país, a Raúl castro por ser parte de la investigación, a la FEBUAP por brindar sus instalaciones durante la investigación que facilitaron favorablemente la obtención de buenos resultados, a la Unidad Académica de Odontología UAGro y sus docentes por ser parte principal de los conocimientos para la comprensión de la investigación, y en especial un agradecimiento a la Doctora e Investigadora de nuestra área Irene Aurora Espinosa de Santilla por su constante interés y compartir su conocimiento abrimos campo a la investigación para mejorar nuestra educación su tiempo y su enseñanza. Finalmente al programa delfin por ofrecer oportunidades a jóvenes como yo que desena sobresalir y desarrollar actitudes para el conocimiento científico, sin olvidar que el apoyo de mi familia fue parte fundamental por impulsar mis sueños y seguir adelante.

Referencias

Lescas M.O., Hernández M.E., Sosa A., Sánchez M., Ugalde-I.C., Ubaldo R.L., et al.(2012). Trastornos Temporomandibulares - Complejo clínico que el médico general debe conocer y saber manejar. Cátedra especial "Dr. Ignacio Chávez". Rev Fac Med Univ Nac Auton Mex. 55(1):4-11.

Peñón V.P., Grau L.I., Sarracent P.H. (2014). Caracterización clínica del síndrome de disfunción temporomandibular en el Hospital Universitario "Miguel Enríquez". Rev Cubana Estomatol. 2011; (consultado 16 de julio 2014)48(4)371-381. disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v48n4/est08411.pdf>

Espinosa S.I., Lara, M.C., Lara, C.A., Saavedra, G.M. (2009). Comparación de los aspectos psicosociales (eje II) de los pacientes con trastornos temporomandibulares de acuerdo a la combinación de diagnósticos físicos (eje I) de los criterios diagnósticos para la investigación de los trastornos temporomandibulares. *Oral Año 10. Núm. 30.* 2009. 478-477.

National institute of dental and craniofacial research. Facial pain. <http://www.nidcr.nih.gov/DataStatistics/FindDataByTopic/FacialPain/> (accessed 7/18/2014).

Dugashvili G., Menabde G., Janelidze M., Chichua Z., Amiranashvili I. (2013). Temporomandibular joint disorder (review). *Iliia State University, Scientific Research Institute of Medicine, Tbilisi; S. Khechinashvili University Clinic, Tbilisi, Georgia. GMN. Núm. 2 (215):17-21.*

Grau L. I., Cabo G.R., (2009). Influencia del tratamiento en pacientes con Trastornos temporomandibulares. *Rev. Cubana Estomatol.* (consultado 16 de julio 2014) 46(4):49-58. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v46n4/est06409>

Ohrbach R, González Y, List T, Michelotti A, Schiffman E. (2014). Criterios Diagnósticos para los Trastornos temporomandibulares (CD/TTM) Protocolo de evaluación clínica, Núm. 1. http://www.quintpub.com/ofph/ofph_28_1_Schiffman_02.pdf

Ohrbach R, González Y, List T, Michelotti A, Schiffman E. (2011). Criterios Diagnósticos para los Trastornos temporomandibulares (CD/TTM) Protocolo de evaluación clínica, Versión Septiembre 24, con acceso en: www.rdc-tmdinternational.org en <datos>”.



Determinación de la actividad antidiabética del extracto etanólico de *Annona muricata* L. (Annonaceae)

José Daniel Chávez González (Becario Programa Delfín)

danichavez1991@gmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Fernando Calzada Bermejo (Asesor)

Unidad de Investigación Médica en Farmacología - CORCE UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS México, D.F

Resumen

*La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad crónica degenerativa que se presenta cuando el páncreas no produce insulina, o bien, la que se produce no es utilizada de manera eficiente por el organismo. Los hipoglucemiantes orales modernos producen efectos adversos indeseables como alteraciones de la función hepática, aumento de peso, diarrea y náuseas. Por lo tanto, se requiere de nuevos tratamientos más baratos, con menos efectos adversos y más accesibles. En este sentido las terapias con formulaciones a base de plantas podrían ser una alternativa en el tratamiento de la diabetes, dentro de las cuales se encuentran las especies de la familia Annonaceae que se han descrito en la medicina tradicional como agentes antidiabéticos. En este estudio se empleó el extracto etanólico de *Annona muricata* L. para evaluar los efectos sobre la glucemia en ratones hembra de la cepa Balb-C con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). Materiales y Métodos: Se trabajaron lotes con ratones hembra de la cepa Balb-C sana y diabética. Se realizó una prueba aguda y un ensayo crónico en animales diabéticos con el extracto. En animales sanos se realizó una prueba aguda en animales sanos. Resultados: El extracto etanólico de *A. muricata* 300mg/Kg logró disminuir los niveles de glucemia en ratones diabéticos a partir de la primera semana de administración, y logro mantenerlos estables durante las tres semanas siguientes del experimento. Conclusión: Los resultados obtenidos explican el uso de esta planta en la medicina tradicional mexicana en el tratamiento de la Diabetes Mellitus.*

Palabras clave: *A. muricata*, Diabetes Mellitus, hipoglucemiante

Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) es un síndrome metabólico crónico degenerativo caracterizado por la aparición de hiperglucemia secundaria a defectos de la secreción o resistencia de la insulina (IDF, 2013b). Esta enfermedad requiere diagnóstico médico, tratamiento y cambios en el estilo de vida, su control es un problema mundial hasta

estos días y el tratamiento exitoso para combatirla aún no ha sido descubierto (Malviya, 2010). En la actualidad se estima que existen 100 millones de personas en el mundo que padecen diabetes, y se calcula que por cada persona que se sabe diabética existe otra que la padece y que no lo sabe. En México, según datos de la Federación Mexicana de Diabetes (FMD) la población aproximada de personas con Diabetes asciende entre 6.5 y 10 millones de personas y se estima que en el mundo existen 347 millones de personas con diabetes (OMS, 2012). Existen muchos medicamentos llamados hipoglucemiantes orales desarrollados para los pacientes diabéticos pero todos ellos producen efectos adversos indeseables como alteraciones de la función hepática, aumento de peso, diarrea y náuseas (Liaw, 2002).

Para el tratamiento y control de la diabetes, en la población mexicana tiene como alternativa está el uso de plantas medicinales. Hasta la fecha más de 400 especies vegetales han sido reportadas que tienen actividad hipoglucémica. Varios estudios etnomédicos han descrito los efectos medicinales de diversas especies vegetales y de *Annona muricata* L. (Familia, *Annonaceae*), comúnmente llamada "Guanábana" que es originaria en la mayoría de las áreas tropicales cálidas de América del Sur y del Norte, incluyendo el Amazonas, la *A. muricata* L. se le ha naturalizado en muchos países y ahora tiene una amplia distribución en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Todas las partes del árbol *A. muricata* L. se utilizan en la medicina natural en las zonas tropicales, incluyendo la corteza, las hojas, raíz y semillas frutales. En general, el zumo de la fruta y la fruta misma se toma como antiparasitarios, antihelmínticos, antipiréticos, para aumentar la producción de leche materna después del parto (lactagogo) y como astringentes en el tratamiento de la diarrea y la disentería. Las semillas trituradas se usan como vermífugos y antihelmínticos. Gran parte de la investigación reciente sobre *A. muricata* es enfocada al aislamiento de metabolitos de las hojas, semillas y el tallo con actividad citotóxica contra varias células cancerosas; la corteza, hojas y raíces se también se toman en forma de té como sedantes, hipoglucémiantes, hipotensores, relajantes del músculo liso antiespasmódico además la corteza tiene propiedades antifúngicas. (Chang, 2001; Chang, 2003). Por tal motivo este proyecto está diseñado para determinar el efecto del extracto etanólico de *A. muricata* sobre los niveles de glucemia en animales diabéticos.

Metodología

Animales: Se emplearon ratones hembra de la cepa Balb-C sanas y diabéticas.

Inducción de diabetes: Se dejó en ayuno a los ratones por 14 horas. Posteriormente se les administraron 2 dosis de 75mg/kg de alloxan., se midieron los niveles de glucemia seleccionando a los ratones con glucemias mayores a 220mg/dL.

Evaluación de la actividad antidiabética del extracto etanólico: Se realizó una prueba aguda en animales diabéticos a dosis de 300mg/kg y 900mg/kg por vía oral midiendo las glucemias a tiempo 0, 2 y 4 h. Posteriormente se realizó un ensayo crónico durante 28 días a dosis de 300mg/kg administrando por vía oral diariamente el extracto y midiendo la glucemia cada 7 días.

Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico: Para determinar el efecto hipoglucémico se realizó una prueba aguda en animales sanos, midiendo glucemias a tiempo 0, 2 y 4. También se realizó una prueba de tolerancia oral a glucosa usando un grupo control (agua), un grupo con una carga de 1.5g/kg de glucosa y otros dos grupos con una carga de glucosa (1.5g/kg) y el extracto a dosis de 300 y 600 mg/kg midiendo glucemias a tiempo 0, 2 y 4 h. El análisis estadístico se realizó usando ANOVA de una vía seguido de una prueba Post-hoc de Dunnett.

Resultados

Prueba aguda de A. muricata en ratones diabéticos: En los animales con DM2 tratados con una dosis de 300mg/kg del extracto hubo una disminución significativa en la glucemia a las cuatro horas (Figura 1). En los tratados con la dosis de 900mg/kg la disminución de la glucemia se observó desde las dos horas, a esta dosis causo 100% de mortalidad de los animales después de las 4 horas (Figura 2).

Ensayo crónico para determinar la actividad antidiabética del extracto de A. muricata en ratones diabéticos: Se trabajó en los ratones diabéticos a dosis de 300mg/kg. La disminución de los niveles de glucosa en sangre se ven desde la primera semana de tratamiento y durante las tres semanas siguientes se mantuvieron estables los niveles de glucemia (Figura 3). Además se observó que no hubo mortalidad en la duración de esta prueba.

Prueba aguda de A. muricata L. en ratones sanos: El efecto del extracto muestra una disminución significativa en niveles de glucemia a las dos primeras horas en animales tratados a dosis de 300 mg/kg (Figura 5). A dosis de 600mg/kg mostró una disminución mayor en comparación con la dosis de 300mg/kg (Figura 6). Y en los

animales tratados a dosis de 900mg/kg se muestra una disminución de niveles de glucosa de 100mg/dL y se observaron cuadros de hipoglucemia (Figura 7).

Prueba de tolerancia a la glucosa en ratones sanos: En el control positivo se observa un pico posprandrial a las 2 horas después de administrar la carga de glucosa (Figura 8), el cual al administrar dosis de 300mg/kg (Figura 9) y 600mg/Kg (Figura 10) este pico se ve inhibido. Lo que nos puede indicar que el posible mecanismo del extracto sea de inhibidor de las α -glucosidasas.

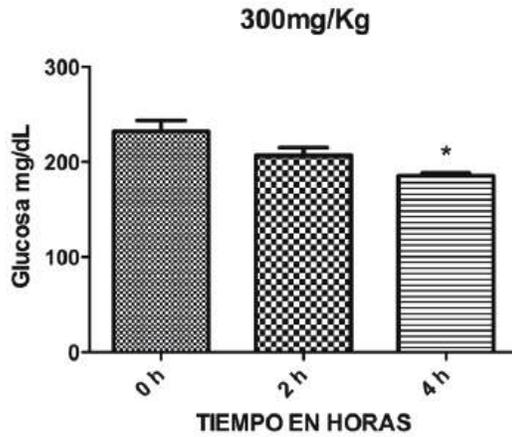


Figura 1. Prueba aguda del efecto antidiabético del extracto de *A. muricata* en ratones diabéticos a dosis de 300mg/kg. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * p<0.05.

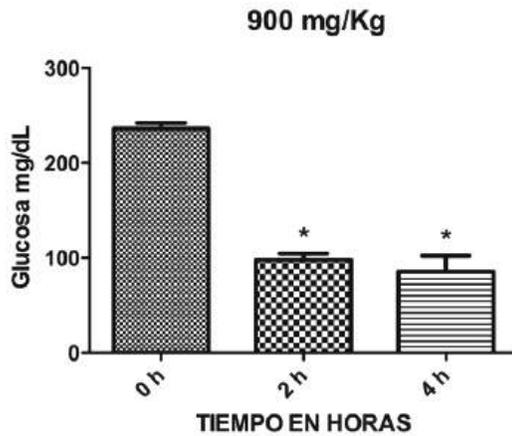


Fig. 2. Prueba aguda del efecto antidiabético del extracto de *A. muricata* en ratones diabéticos a dosis de 900mg/kg. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * p<0.05.

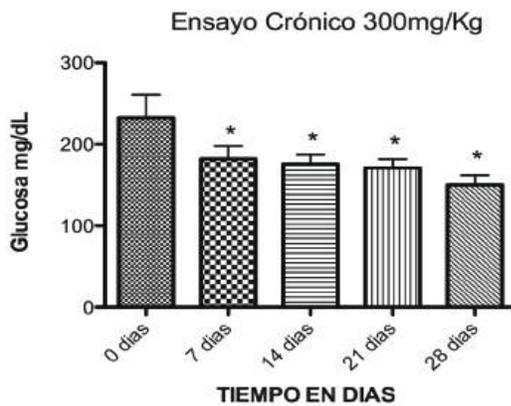


Figura 3. Ensayo crónico para determinar la actividad antidiabética del extracto de *A. muricata* en ratones diabéticos. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * p<0.05.

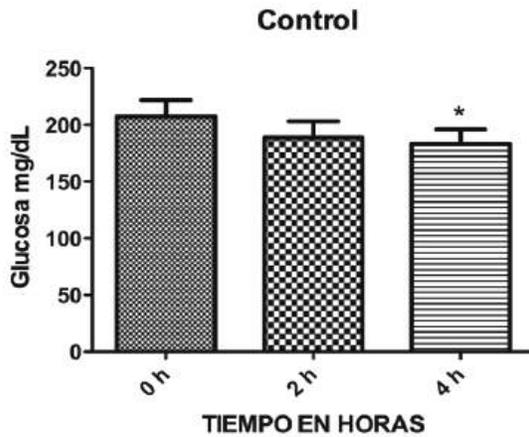


Figura 5. Prueba aguda del efecto hipoglucemiante del extracto de *A. muricata* en ratones sanos a dosis de 300mg/kg. . n=6 ANOVA de una vía; Promedio ± D.E. * p<0.05.

Figura 4. Prueba aguda del efecto hipoglucemiante del extracto de *A. muricata* en ratones sanos. Grupo control. n=6 ANOVA de una vía; Promedio ± D.E. * p<0.05.

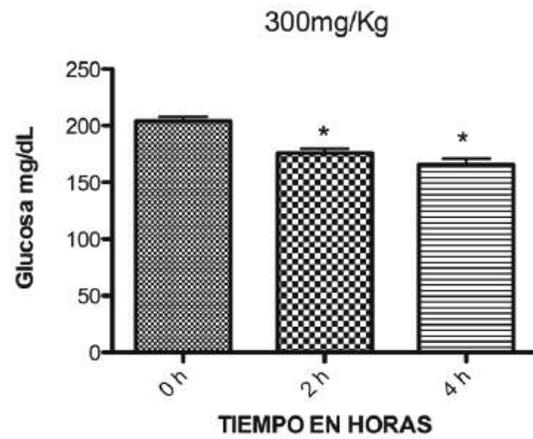


Figura 6. Prueba aguda del efecto hipoglucemiante del extracto de *A. muricata* en ratones sanos a dosis de 600mg/kg. . n=6 ANOVA de una vía; Promedio ± D.E. * p<0.05.

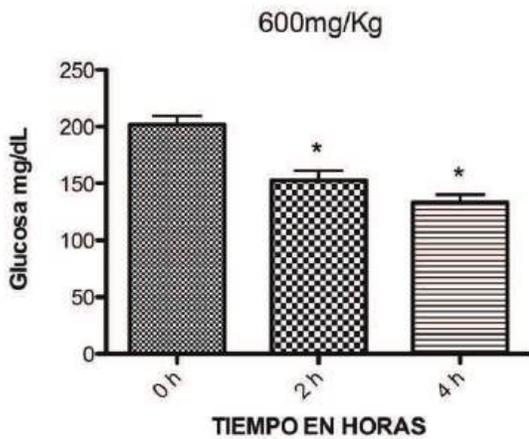
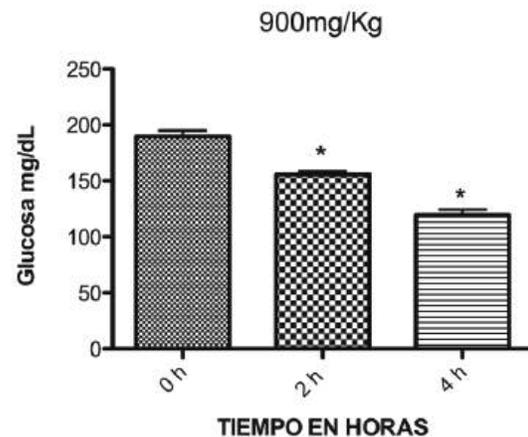


Figura 7. Prueba aguda del efecto hipoglucemiante del extracto de *A. muricata* en ratones sanos a dosis de 900mg/kg. . n=6 ANOVA de una vía; Promedio ± D.E. * p<0.05.



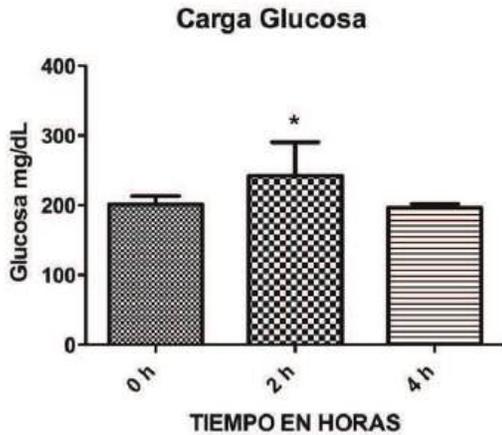


Figura 8. Prueba de tolerancia a la glucosa en ratones sanos. Control positivo. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * $p < 0.05$.

Figura 9. Prueba de tolerancia a la glucosa en ratones sanos a dosis de 300mg/kg. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * $p < 0.05$.

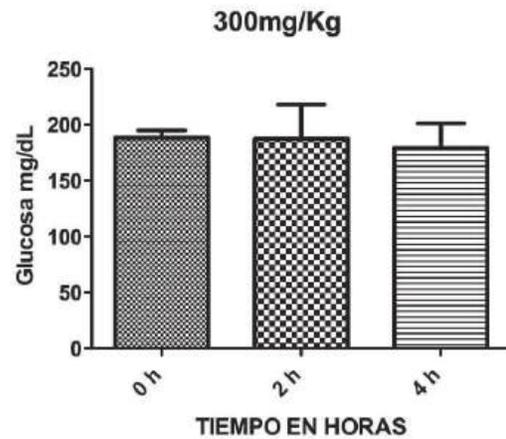
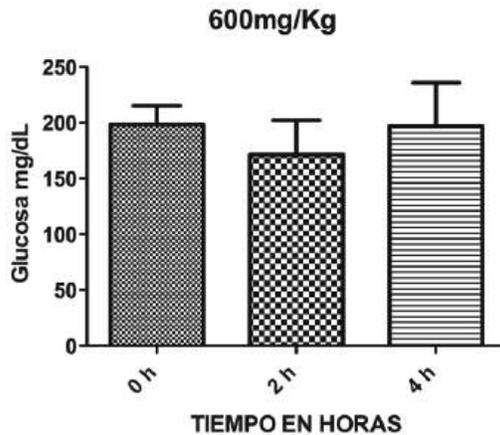


Figura 10. Prueba de tolerancia a la glucosa en ratones sanos a dosis de 600mg/kg. n=6 ANOVA de una vía; Promedio \pm D.E. * $p < 0.05$.



Discusión

El objetivo principal de este trabajo fue determinar el efecto antidiabético del extracto etanólico de *A. muricata* sobre niveles de glucemia de ratones diabéticos. La dosis que se eligió para este proyecto fue a 300mg/kg debido a que a dosis de 900mg/kg hubo mortalidad en los ratones de un 100%, en cambio a dosis de 300mg/kg no hubo mortalidad. Posteriormente con esta dosis se realizó el ensayo crónico que mostró una disminución significativa de los niveles de glucemia desde la primera semana de tratamiento manteniéndolos estables durante las semanas restantes del experimento. Posteriormente se determinó el efecto hipoglucemiante del extracto sobre ratones

sanos con diferentes dosis del extracto (300, 600 y 900mg/kg) los cuales mostraron un efecto hipoglucemiante a partir de las dos horas después de la administración del extracto en los tres experimentos, siendo en la dosis de 900mg/kg la que llevo a los ratones a cuadros de hipoglucemia severa a las 4 horas después de la administración del extracto. También se realizó la prueba de tolerancia oral a glucosa en animales sanos, en el grupo control positivo se observó un pico postprandial a los 2 horas después de la carga de glucosa el cual se observó con inhibición cuando se administró a los ratones que fueron tratados con dosis de 300mg/kg y 600mg/kg del extracto, lo que nos indica que su mecanismo de acción sea por medio de la inhibición de las enzimas α -glucosidasas.

Conclusión

El extracto etanólico de *A. muricata* tiene actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante y su probable mecanismo sea de inhibidor de las enzimas α -glucosidasas, por lo tanto estos resultados explican el uso de esta planta en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento y control de la diabetes.

Agradecimientos:

La estancia de investigación forma parte del proyecto: "Efecto hipoglucemiante en un modelo murino de extractos de plantas medicinales usados para tratar diabetes". Con número de registro Hospital de Especialidades: R-2012 3601-182. Es financiado por el IMSS: (FIS/IMSS/PROT/G12/1110). Se agradece al M en C Jesús Iván Solares por sus comentarios.

Referencias.

- Adewole, S.O. and Caxton-Martins, E.A.** (2006). Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Anonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic A-cells of streptozotocin-treated diabetics rats. *Afr. J. Biomed. Res.*, 9: 173-180.
- Chang R. F.** (2001): "Novel cytotoxic annonaceous acetogenins from *Annona muricata*." *J. Nat. Prod.* 64(7), 925-931.
- Chang R. F. et al.** (2003): "New adjacent bistetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*." *Planta Med.* 69(3), 241-246.
- International Diabetes Federation [IDF]. (2013b). ¿Qué es la diabetes? Recuperado el 18 de septiembre de 2013, de <http://www.idf.org/worlddiabetesday/toolkit/es/gp/que-es-la-diabetes>
- Liaw C. C. et al.** (2002): "New cytotoxic monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*." *J. Nat. Prod.* 65(4), 470-475.
- Malviya, N., Jain, S. y Malviya, S.** (2010). Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Pol Pharm*, 67, 113-8.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Comparación analítica de la capacidad buffer de niños y adultos

Fermín Torres Soto (Becario Programa Delfín)

goldmiths.fer@hotmail.com

Unidad Académica de Odontología. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Yolanda Hernández Molina (Asesor)

Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Resumen

Conocer las generalidades de la saliva es importante para todo aquel que esté dando servicio en la práctica Estomatológica porque es uno de los recursos fundamentales para poder hacer los diferentes diagnósticos de las enfermedades que se pueden encontrar en las estructuras que conforman la cavidad oral como labios, carillos, dientes, lengua, mucosas, etc. El presente proyecto habla sobre el estudio comparativo de la capacidad buffer de la saliva entre niños y adultos.

Palabras clave: saliva, capacidad buffer, niños y adultos

Introducción

La saliva es un fluido oral secretado por glándulas salivares mayores y menores que al ser excretada por estas glándulas aportan a la saliva diversos elementos que hacen que tenga las diversas características funcionales importantes para la cavidad oral. Entre sus funciones de la saliva se encuentra la digestiva, protectora, limpieza entre otras que más adelante explicaremos. Una función importante que tiene la saliva es la de su capacidad amortiguadora, es decir, la capacidad que le confieren los bicarbonatos y los fosfatos para elevar el pH ácido de la cavidad oral (debido a la dieta y al crecimiento de los diversos microorganismos que habitan la flora salival), y así ser una barrera de protección para evitar la expansión o desarrollo de estos microorganismos y por consiguiente la desmineralización de los tejidos dentarios de la cavidad oral produciendo la que es considerada una de las más constantes enfermedades que afecta al ser humano, la caries dental.

Conocer las generalidades de la saliva es importante para todo aquel que esté dando servicio en la práctica Estomatológica porque es uno de los recursos fundamentales para poder hacer los diferentes diagnósticos de las enfermedades que se pueden encontrar en las estructuras que conforman la cavidad oral como labios, carillos, dientes, lengua, mucosas, etc. El impacto social de esta investigación es el conocimiento de la capacidad de la saliva su repercusión en cada uno de las personas, conocer alternativas para al mejoramiento de su salud bucal y prevenir problemas a temprana edad y no cuando estos requieran atención inmediata o urgente y requiera de un concepto de atención especializada y requieran de una gran inversión.

El sistema estomatognático, está conformado por labios, carillos, lengua, dientes, mucosas, faringe, laringe. Y la saliva juega un papel muy importante en la salud oral. La saliva, es un líquido incoloro, insípido, inodoro, algo espumoso y muy acuoso. Es un líquido orgánico producido por las glándulas salivales, entre ellas dos parotídeas (parótidas), dos submaxilares (submandibulares) y dos sublinguales, así como otras menores distribuidas de manera aislada a lo largo de la mucosa bucal. Además, contienen los componentes del suero que entran en la cavidad oral a

través de la mucosa oral dañada o el periodonto. La secreción de saliva responde a estímulos del sistema nervioso autónomo. La estimulación simpática origina volúmenes menores de una secreción viscosa, con lo cual proporciona la sensación de resequecedad bucal (por ejemplo ante situaciones de estrés). La estimulación parasimpática origina secreción acuosa abundante. La saliva en reposo se define como aquella que se produce espontáneamente, en ausencia de estímulos salivales exógenos o farmacológicos y en situación de relajación. La saliva estimulada es la que se obtiene después de haber sometido al sujeto a estímulos. En ausencia de saliva, no sólo los dientes se desintegran rápidamente, sino también la mucosa oral se vuelve vulnerable a infecciones bacterianas, virales, y de hongos.

Componentes de la saliva orgánicos; dentro de los componentes orgánicos se detectan los carbohidratos, proteínas, ricas en prolina, glucoproteínas, mucinas, histatinas, estaterinas, cistatinas, y enzimas tales como alfa amilasas, peroxidasa, salivales y anhidrasas carbónicas. Las proteínas más importantes de la saliva son las mucinas, histatinas, estaterinas, cistatinas, proteínas ricas en prolina y enzimas. Algunas de las propiedades físicas de la saliva son probablemente dependientes del contenido de mucinas. La mucina tiene un papel puramente mecánico facilita el deslizamiento de los alimentos y, además, desempeña una función limpiadora. Entre las enzimas la amilasa es la más destacada e importante. La concentración en saliva parotídea suele ser el cuádruple respecto a la submandibular. La cantidad es variable y su acción principal parece ser la de metabolizar el almidón de los residuos alimenticios que permanecen en la boca después de las comidas, más que la de contribuir al proceso de digestión. El consumo de dietas altas en carbohidratos produce una elevación del contenido de amilasa en la saliva. La peroxidasa salival (lactoperoxidasa) forma parte del sistema antibacteriano que cataliza la oxidación del tiocianato salival mediante peróxido de hidrógeno. La lisozima es una proteína básica y se comporta como enzima. Su eficacia depende del pH. Produce lisis de bacterias del medio bucal influyendo en el balance ecológico de la flora oral. Las lipasas (actividad lipolítica), hidrolizan los triglicéridos de cadena larga para liberar los ácidos grasos y glicéridos parciales. La lactoferrina tiene propiedades bacteriostáticas para varios microorganismos aerobios y facultativos. Evita que el hierro, sea utilizado por las bacterias, proporcionando inmunidad nutricional. Las inmunoglobulinas salivales constituyen la primera línea de defensa ante la infección. La IgA salival difiere de la sérica en que aquella contiene un glucopéptido adicional al que se denomina componente secretorio. Las concentraciones salivales de IgG e IgM son unas diez veces menores que las de las de IgA. Dentro de los lípidos, están los ácidos grasos libres, colesterol, lecitina, y fosfolípidos, las propiedades de los lípidos son de interés ya que muchas proteínas son hidrofóbicas. El papel fisiológico es todavía poco conocido. Los hidratos de carbono, la saliva posee pequeñas cantidades de carbohidratos libres, especialmente glucosa proveniente de la dieta y de la degradación de las glucoproteínas salivales por enzimas bacterianas como la glucosidasa. Los hidratos de carbono de la saliva están formados por hexosaminas como galactosa, manosa, glucosa y acidisialico. La concentración de glucosa es menor que en sangre.

Componentes inorgánicos de la saliva; encontramos calcio, sodio, potasio, magnesio, cloruro, sulfato y tiocianato. En menores cantidades: fluoruro, yoduro, bromuro, hierro, estaño, nitrito y, en algunas muestras de saliva mixta también zinc, plomo, cobre y cromo. Entre las numerosas funciones que poseen estos compuestos, destaca el sistema tampón llevado a cabo principalmente por bicarbonatos y fosfatos. El elemento más importante, el calcio, existe unido a proteínas, ionizado o como ion orgánico, como ion esencial participa en la adherencia de los microorganismos Grampositivos a la película salival adquirida. Interactúa en el proceso de mineralización del esmalte y también se encuentra presente en la placa calcificada en forma de fosfato de calcio. Además de la función tampón, los electrolitos inorgánicos desempeñan un papel capital en la cavidad oral como la remineralización de las estructuras duras, mecanismos de defensa del huésped, actividad enzimática y mantenimiento de la estabilidad del medio.

Funciones; la saliva puede influir en el medio bucal por factores tales como su capacidad amortiguadora, abundancia de la secreción, concentración de iones hidrógeno, acción de las enzimas salivales, anticuerpos. Digestiva: la saliva participa en la formación del bolo alimenticio y solubiliza los alimentos sólidos, protectora: la saliva lubrica los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal a través de las glucoproteína. Las mucinas salivales se depositan sobre las mucosas, previenen la desecación y evitan la penetración de toxinas y sustancias irritantes. Y actividad cariogénica.

Capacidad buffer; esta capacidad que se vincula con el contenido de bicarbonato ácido carbónico, sirve para mantener el pH bucal relativamente constante y así evita la acción desmineralizante de los ácidos sobre el esmalte, ya que el pH cumple una función clave en el desarrollo de la microbiota bucal. El pH salival promedio es de 6.7. Un pH bajo favorecerá el desarrollo de microorganismos acidogénicos y ácidos tales como estreptococos y lactobacilos. La eliminación de azúcares: se produce por la disolución del azúcar en la saliva de la cavidad bucal antes de su

deglución, su capacidad de eliminación está directamente relacionada con el flujo salival. El volumen de saliva segregado varía entre 700 y 800 mL diarios con un promedio de .03 M por minuto.

Flujo Salival; un flujo apropiado de la saliva es fundamental para la conservación de la salud oral. Es evidente que las bacterias orales están sujetas a varias funciones importantes de la saliva, las cuales afectan su colonización, supervivencia y metabolismo. Los mecanismos más importantes por los cuales la saliva puede afectar la caries son: Limpieza mecánica de los detritos y bacterias de la placa, actividad antibacteriana contra la microflora oral, es decir, lisis y agregación, amortiguamiento y neutralización de los ácidos de la placa y aumento de la remineralización. La tasa de flujo salival es el parámetro determinante en la valoración del riesgo de caries. La ausencia de saliva, la xerostomía o la hiposalivación pueden ocasionar un aumento extremo en el riesgo de caries.

Hiperfunción salival/ Sialorrea; hipersalivación puede perjudicar la habilidad de eliminar las secreciones orales y, en casos severos, puede producir una obstrucción parcial o total de las vías respiratorias. Esto puede dar lugar a la aspiración del contenido oral, neumonía por aspiración, y la asfíxia.

Hipofunción salival/ xerostomía; los casos de xerostomía e hipofunción salival son más comunes en adultos debido a numerosas condiciones sistémicas y sus tratamientos. La disminución de la tasa de flujo es un efecto adverso común de una gran cantidad de medicamentos y de radioterapia. Una disminución de la tasa de flujo salival y/o una alteración de la calidad de la saliva pueden modificar el equilibrio del proceso de mineralización y provocar un aumento del riesgo de caries dentales.

Capacidad amortiguadora de la saliva; la capacidad amortiguadora propiciada por el bicarbonato y los fosfatos de la saliva tiene importancia para la conservación de los valores normales de pH en la saliva y la placa. Una secreción baja puede indicar un efecto, amortiguador menor. Sin embargo la tasa de secreción salival y su capacidad amortiguadora difieren en diversas partes de la boca. La composición y la acidogénesis de la placa pueden afectarse de manera diferente según este cerca de un conducto salival o en la profundidad de una fisura. Sin embargo, los valores desfavorables de la capacidad de amortiguamiento y de la tasa de flujo salival deben considerarse como factores de riesgo para la persona en particular.

Exudado gingival; El Exudado gingival o crevicular es un derivado del suero que se encuentra en el surco gingival. En el se detectan albumina, glucoproteínas, lipoproteínas, hemina M, alfa-2-globulina sodio, potasio, calcio, magnesio y fosfatos inorgánicos. Algunos de estos elementos, como la hemina y la alfa2-globulina son imprescindibles para el desarrollo de las bacterias de la placa subgingival, cuando la placa supragingival se establece, se desarrolla y prolifera en función y con tiempo se presenta un cuadro inflamatorio que aumenta la cantidad de exudado gingival. La composición y la viscosidad del líquido sirven como indicadores para medir la intensidad de la inflamación gingival.

Metodología

El método utilizado fue descriptivo y analítico. La población de estudio está conformada por 20 pacientes de los cuales 8 fueron niños de edades entre los 6 a 14 años y adultos de edades entre los 19 a 56 años, datos que fueron recabados en la clínica de la universidad autónoma de San Luis Potosí durante julio del 2014. De los pacientes que asistieron 9 fueron hombres y 11 mujeres, de los cuales se tomaron muestras de saliva no estimulada para el análisis de pH y capacidad buffer de la saliva. Se determinó tomar muestra de saliva no estimulada. Para las muestras el tiempo de recolección fue de 5 minutos. El método fue por simple decantación de la saliva y el material utilizado fue un tubo milimetrado, cronometro. Para analizar el pH de la saliva no estimulada se realizó una comparación de pH entre 3 mezclas (3ml. de solución de fosfatos con una gota de ácido láctico, 3ml. de agua con una gota de ácido láctico y saliva más una gota de ácido láctico, 3ml. de solución de fosfatos con amoniaco, 3ml. de agua con amoniaco, Saliva más una gota de amoniaco y con unas tiras de reactivos de pH el valor obtenido.

Resultados

El volumen de muestra promedio de flujo salival es; mínimo (menos de 2 ml), adecuado (2ml) y suficiente (más de 2 ml). Los valores piloto para hacer la comparación del pH de la saliva recolectada, se describen en las tablas 1, 2 y 3.

Tabla 1. Comparación de pH de la saliva recolectada

3ml. de solución de fosfatos con 1 gota de ácido láctico	7
3ml. de agua destilada más 1 gota de ácido láctico	5
3ml. de solución de fosfatos más 1 gota de amoníaco	7
3ml. de agua destilada más 1 gota de amoníaco	10

Tabla 2. Valores piloto para hacer la comparación del pH de la saliva recolectada

No.	Volume n(ml)	Evaluación	p H	Capacida d buffer	pH alcalino	Capacida d buffer
1	2	Adecuado	5	Mínima	7	Buena
2	2	Adecuado	6	Regular	7	Buena
3	2.5	Suficiente	6	Regular	7	Buena
4	4.5	Suficiente	6	Regular	7	Buena
5	4.5	Suficiente	6	Regular	7	Buena
6	3	Suficiente	6	Regular	8	Regular
7	4	Suficiente	6	Regular	8	Regular
8	1	Mínimo	5	Mínima	10	Mínima
9	4	Suficiente	5	Mínima	7	Buena
10	3	Suficiente	6	Regular	7	Buena
11	1.5	Mínimo	4	Mínima	8	Regular
12	2.5.	Suficiente	6	Regular	8	Regular
13	2	Adecuado	4	Mínima	7	Buena
14	3.5	Suficiente	6	Regular	7	Buena
15	3	Suficiente	5	Mínima	7	Buena
16	4	Suficiente	7	Buena	7	Buena
17	5	Suficiente	6	Regular	8	Regular
18	4	Suficiente	5	Mínima	7	Buena
19	3.5	Suficiente	5	Mínima	6	Alta
20	4ml.	Suficiente	5	mínima	7	buena

Tabla 3. Valores comparativo entre las capacidades buffer de niños y adultos

pH ácido promedio de niños	5.75
pH alcalino promedio de niños	7.625
pH ácido promedio de adultos	5.33
pH alcalino promedio de adultos	7.166

Conclusiones

Los valores obtenidos demostraron que la capacidad amortiguadora de la saliva es mejor en niños que en los adultos. Con el paso del tiempo el flujo salival así como la capacidad amortiguadora disminuye, incrementando así el riesgo cariogénico de la población.

Referencias

Escovich Livia, Novelli José Luis. (2002). Glándulas salivales patología, diagnóstico y tratamiento UNR Editor.
Higashida Y. Bertha. (2009). Odontología preventiva, 2ª edición Editorial Mc Graw Hill. p. 63



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Determinación de la expresión de CRTAM en neutrófilos

Lissuly Guadalupe Álvarez Hilario (becario del programa Delfin)

lissuly@hotmail.es

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la UAGro

Dr. Vianney Francisco Ortiz Navarrete (Asesor)

vortiz@cinvestav.mx

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional

Resumen

CRTAM (del inglés Class I Restrictved Associated Molecule), también designada como CD355 (Patiño, 2006), es una proteína que juega un papel importante en la mediación de la adhesión y migración celular cuando esta expresada en células activadas del sistema inmune tales como T CD8+, CD4+ y NKT (Yeh, 2008; Kennedy J, 2000), sin embargo se desconoce la cinética de expresión de CRTAM en neutrófilos, donde su expresión también podría estar relacionada con la producción de citocinas, adhesión y migración celular. Se determinó la cinética de expresión de CRTAM en neutrófilos activados, para ello se purificaron las células de sangre periférica por medio de un gradiente de densidad (Histopaque y Percoll), con ayuda de marcadores anti-hCRTAM se identificaron por medio de Citometría de flujo si los neutrófilos expresan esta proteína en su superficie, previamente estimulados con PMA (Forbol 12 miristato-13 acetato) a diferentes concentraciones del mismo y a diferentes tiempos de incubación, los datos se analizaron en FlowJo 7.5.6. En base a los resultados encontrados se propone que para la expresión de CRTAM es necesario una síntesis de novo en el caso de neutrófilos.

Palabras claves: CRTAM, Neutrófilos, PMA, Citometría de flujo.

Introducción

La activación de células T es un evento complejo que inicia una respuesta inmune. Este proceso implica un complejo de transducción de señales que conduce a la activación de factores de transcripción, la producción de citocinas, la proliferación de células T y la diferenciación celular (Dustin,2000). Muchas moléculas transcritas durante la activación de las células T se expresan rápidamente, de forma transitoria y desempeñan papeles esenciales en el desarrollo de la respuesta inmune (Kronke et.al., 1985), otras moléculas se encuentran de manera permanente en células del

sistema inmune, juegan papeles importantes y algunas necesariamente tienen que recibir un estímulo para que sean nuevamente sintetizadas.

CRTAM, descrita anteriormente, es una molécula de activación que se expresa predominantemente en las células T CD8 + (Kennedy et al., 2000 y Patino et al., 2006), forma parte de la súper familia de las inmunoglobulinas, es un tipo de proteína transmembrana de tipo I que contiene dominios V y C1 como Ig, conserva una clase de PSD-95 y dominios ZO-1 interactuando, capaz de ensamblar grandes complejos de proteínas involucrados en una variedad de vías de señalización incluyendo adhesión celular, polaridad y proliferación celular (Yeh, 2008), la interacción del receptor CRTAM con su ligando Nectin-like 2 incrementa la secreción de IFN- γ (Valle, 2009), pero no en células NK, en ellas esta proteína contribuye a su función citotóxica (Boles, 2005). Se ha encontrado que una pequeña población de T CD4+ produce IFN- γ e IL-17, también expresan CRTAM tras la activación, pero la deficiencia de esta proteína no solo se ve reflejada en la producción de IFN- γ e IL17, también se presenta defectos en la polaridad celular, describiéndose que juega un papel su regulación (Yeh, 2008).

Los neutrófilos tienen un papel importante en la respuesta inmune innata, en su interior contienen gránulos que favorecen la fagocitosis y destrucción de microorganismos (Volker, 2004), al igual que los linfocitos T y NK, los neutrófilos secretan citocinas, además expresan moléculas tales como las de adhesión, que permiten el desplazamiento sobre la superficie endotelial, bajo estímulos migran de la circulación sanguínea a tejidos infectados y cumplen su función principal. La expresión de proteínas en la superficie de los neutrófilos es dependiente de su estímulo, del tiempo en que se logre expresar, del tipo de síntesis y de la necesidad de la célula para cumplir cierta función que involucre a la proteína. La cinética de expresión de CRTAM en la superficie de los neutrófilos se desconoce, se ha determinado en células T CD8+ y CD4+ su expresión a las 12 horas (Yeh, 2008), en este trabajo se pretende conocer la cinética de expresión de esta proteínas bajo un estímulo capaz de activar vías que desencadene su expresión.

Materiales y métodos

Purificación neutrófilos de sangre periférica

Muestras de sangre periférica obtenida en tubos vacutainer heparinizados a partir de voluntarios sanos, se realizó un gradiente agregando Histopaque (Sigma) en relación 1:1, la sangre se agrega con precaución para no mezclarse, se centrifugó a 2700 rpm 30 min a temperatura ambiente, después de centrifugar, la interfase que contenía a los granulocitos se recuperó y se lavó con solución de lavado (Hanks 1X- SFB). El segundo gradiente, se prepara a partir de un stock de Percoll (1 ml Hanks 10 X + 9ml Percoll) y solución de Hanks 1X, para obtener diluciones a 65% (0.7ml Hanks+1.3 ml). 70% (0.6 ml Hanks 1X +1.4 MI Percoll), 75% (0.5ml Hanks+ 1.5ml Percoll), 80% (0.4 ml Hanks+ 1.6ml Percoll) y 85% (0.3ml Hanks 1X+ 1.7 ml Percoll). Una vez lavadas las células se resuspendieron en 2 ml de Hanks-SFB y agregadas al gradiente de Percoll, se centrifugó a 2700 rpm 30 min. Se obtuvo el anillo que contiene a los polimorfonucleares (PMN), fase que se encuentra entre la fase 70 y 75% del gradiente, se lavaron como el anterior y resuspendieron en 2ml de medio (DMEM 1X suplementado con 10% SFB; Gibco), se determinó el número de células y la viabilidad por exclusión del colorante azul de Tripán en contador automático de células (Biorad).

Cultivo y activación de neutrófilos

Los PMN a una densidad de 5×10^5 se cultivaron en celdas de cultivo, a 20, 40 y 60 minutos inicialmente se estimuló a una concentración de 5, 10 y 25 nM de PMA (Forbol-miristato-acetato)

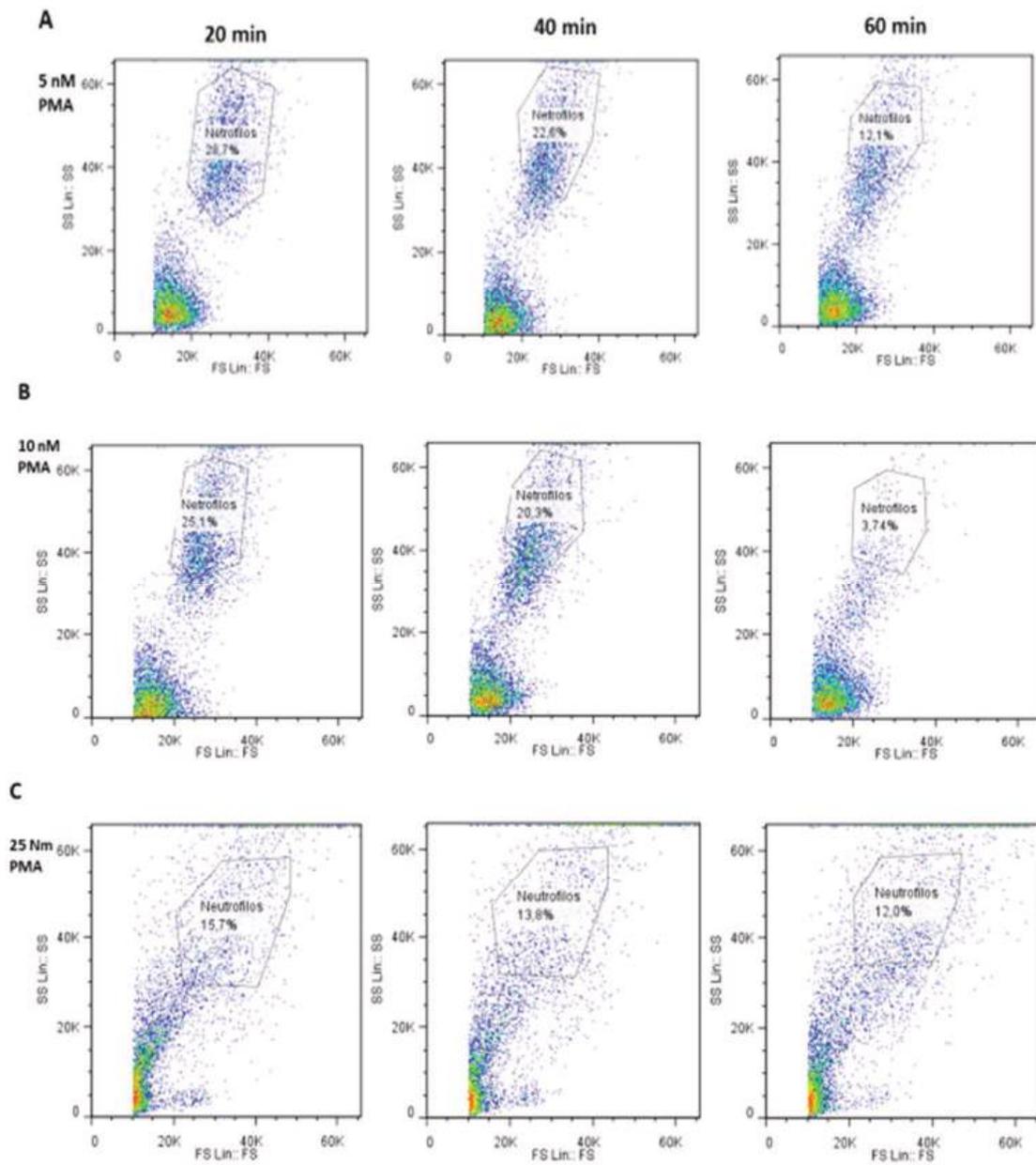
fueron incubadas a 37 ° C y 5% CO₂. Las células se estimularon a 5 nM por tiempos más prolongados 1, 3 y 6 horas, a las mismas condiciones en incubadora (Nuanre) ya descritas, en todos los casos de tiempo se cultivaron células sin estímulo de PMA para presentarlas como controles, pasado el tiempo fueron cosechadas las células activadas y no activadas, se lavaron con buffer de lavado (PBS 1% SFB), para su posterior tinción.

Tinción para Citometría de Flujo

Después del lavado de las células, se realizó una tinción superficial para la determinación de CRTAM en neutrófilos, su expresión se evaluó con el anticuerpo anti-hCRTAM (R&D System), las células fueron colocadas en tubos para Citometría, inicialmente se bloquearon sitios de unión inespecíficos con gammaglobulinas (5 µl) incubándose de 15 a 20 minutos a 4°C en hielo. Pasado el tiempo de bloqueo las células estimuladas y no estimuladas se distribuyeron en la misma proporción en tubos rotulados tinción y no tinción, se agregó 0.7 anti-h CRTAM a los tubos con la leyenda "tinción", incubándose 25 minutos a 4°C, posteriormente se lavó con buffer de lavado (PBS 1% SFB), las células se fijaron con 100 µl de paraformaldehído (PFA al 4%). El análisis de Citometría de flujo se realizó usando un citómetro de flujo (Cyan Beckman Coulter) y software FlowJo 7.6.4.

Resultados

Para la realización de este trabajo, fue necesario determinar la concentración y el intervalo tiempo y así conocer si era posible observarse la expresión de CRTAM en neutrófilos, en un primer experimento no se observó expresión de la proteína en los neutrófilos estimulados a 5, 10 y 25 nM de PMA por 20, 40 y 60 minutos. Un aspecto relevante encontrado para estimular los neutrófilos a otra concentración de PMA y a diferentes tiempos, fue que las poblaciones de neutrófilos estimulados a 10 y 25 nM PMA (1B Y 1C) a los mismos tiempos fueron muriendo, esto determinado por el tamaño intermedio-alto y granularidad en Citometría de flujo (Forward Scatter (FSC), Side Scatter (SSC)). Esto mismo pudo observarse a la concentración de 5 nM (figura 1A) pero puede observarse que la población de neutrófilos vivos es mayor que en las concentraciones de 10 y 25 nM esto en comparación con las células no estimuladas. En cuanto a la expresión de la proteína en células estimuladas con PMA a 5, 10 nM (figura 2) por 20, 40 y 60 minutos no se observó su expresión. En un segundo ensayo las neutrófilos fueron estimulados por tiempos más prolongados 1, 3 y 6 horas con una concentración de 5 nM (figura 3), esta vez a las poblaciones de neutrófilos no les afectó gravemente la concentración de PMA agregada, se puede observar que la población de células esta más concentrada a 1 hora, a las 3 horas la población se dirige hacia el cuadrante negativo del plano, eso mismo sucede a las 6 horas pero en este caso es un mayor número de células. Este segundo ensayo nos permitió observar la expresión de CRTAM, observándose un pico a las 3 horas, y un declive a las 6 horas (figura 4).



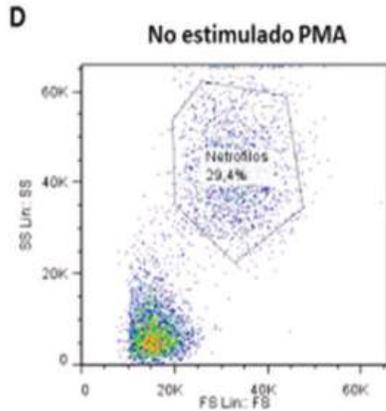


Figura 1. Neutrófilos vivos de sangre periférica fueron identificados de acuerdo al tamaño (forward scatter) y granularidad (side scatter). A partir de la purificación de neutrófilos con un gradiente de densidad, se estimularon neutrófilos a diferentes concentraciones (PMA) y se analizaron por Citometría de flujo. (A) Neutrófilos estimulados a 5 nM PMA durante 20, 40 y 60 minutos. (B) Células estimulas a 10 nM PMA a los mismos tiempos. (C) Población de neutrófilos vivos estimulados a 25 nM a los mismos tiempos. (D) Neutrófilos no estimulados.

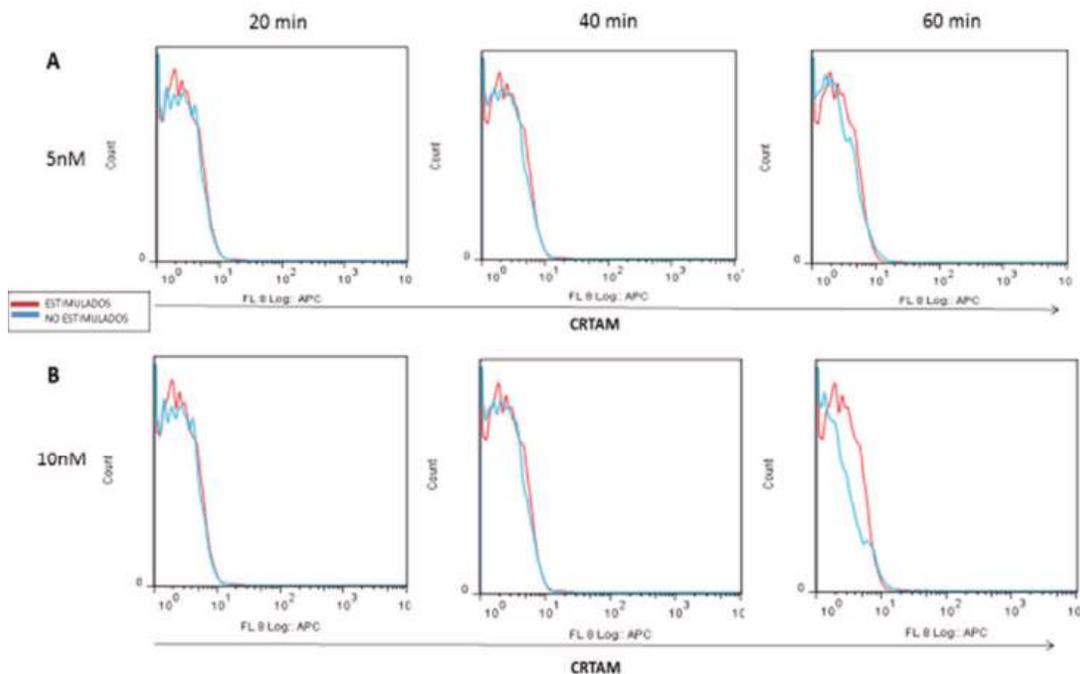


Figura 2. CRTAM no es expresada en neutrófilos ctivados a tiempos cortos. (A) Análisis por citometria de flujo para la determinacion de CRTAM en neutrófilos activados con 5 nM PMA por 20, 40 y 60 minutos. (B) Neutrófilos activados con 10 nM PMA a los mismos tiempos.

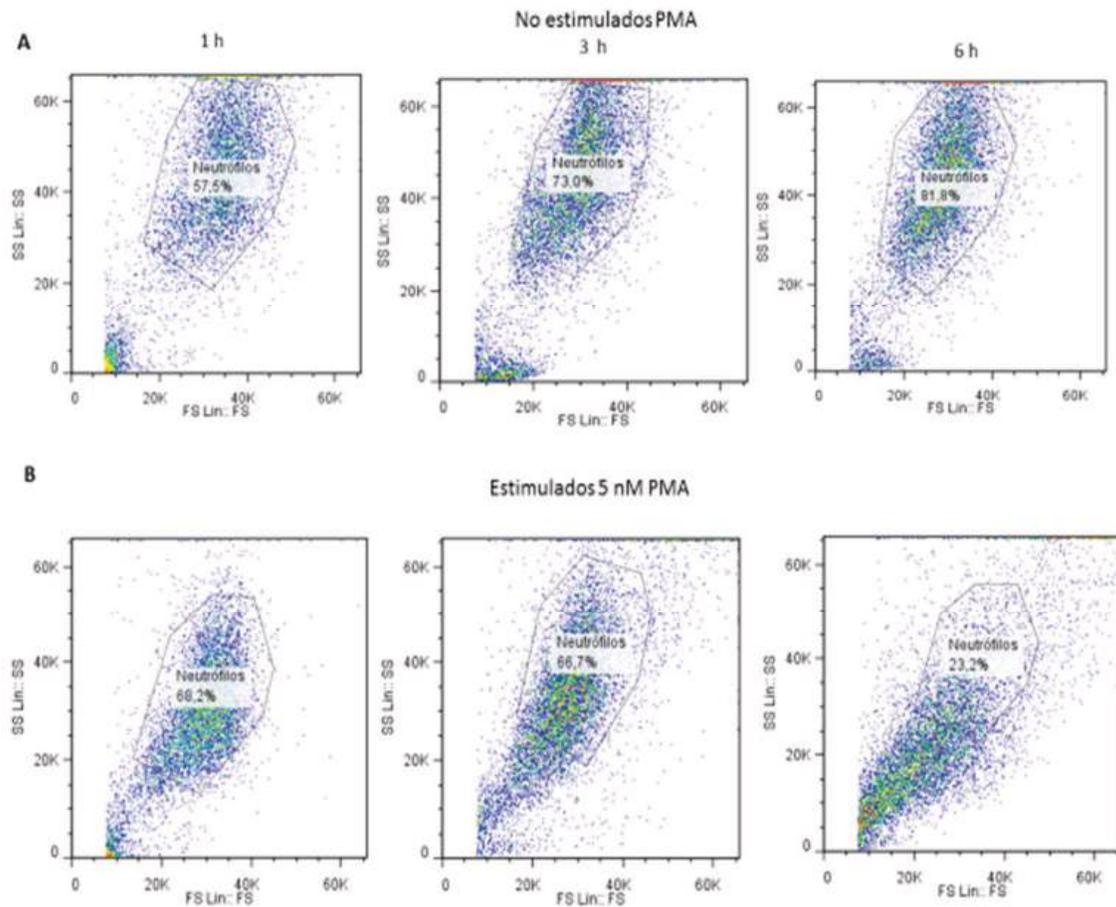


Figura 3. Identificación de poblaciones de Neutrófilos vivos, no estimulados y estimulados con 5 nM PMA de acuerdo al tamaño (forward scatter) y granularidad (side scatter). (A) Neutrófilos no estimulados con PMA. (B) Poblaciones de neutrófilos vivos estimulados con 5 nM PMA.

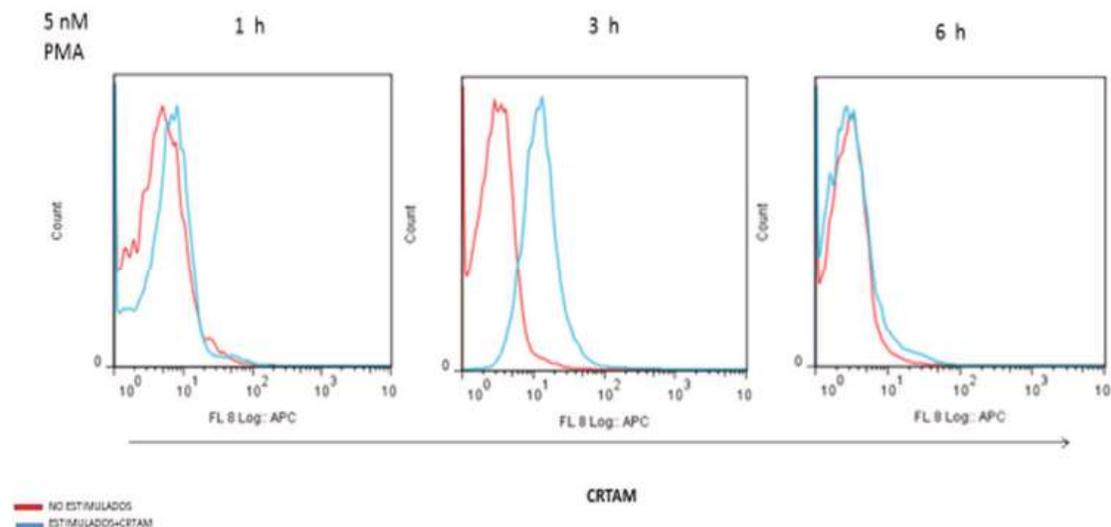


Figura 2. CRTAM es expresada en neutrófilos después de su estimulación. Estudio cinético de la expresión de CRTAM en neutrófilos post-activación con 5 nM PMA, por 1, 3 y 6 horas, analizados por citometría de flujo. La población de células no estimuladas se indica de color rojo, y las células estimuladas de color azul.

Discusión y conclusiones

La estimulación de los neutrófilos con PMA lleva a la activación de vías de señalización que involucra al factor de transcripción que controla la expresión de CRTAM. En un principio no se conocía la concentración de PMA ideal para que los neutrófilos fueran estimulados sin causarles la muerte, con ello se observó que a concentraciones de 5 nM PMA, se puede obtener poblaciones vivas de neutrófilos, y sobre estos determinar la expresión de CRTAM, vista claramente a las tres horas post activación, la población es homogénea a la activación de la proteína, siendo que en cada célula se expresa CRTAM en su superficie. A las tres horas no se observa presencia de CRTAM, a las seis horas tanto la población neutrófilos vivos desciende y su expresión en la pequeña población viva no se expresa. El estudio cinético en cada hora de estímulo partiendo desde una hora, podría ayudarnos a determinar la hora de inicio en la expresión de esta proteína y el inicio su declive.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- Se determinó la cinética de expresión de CRTAM en neutrófilos activados.
- Bajo una concentración de 5 nM PMA los neutrófilos pueden expresar a la proteína CRTAM en su superficie, concentraciones más altas los perjudica.
- Los neutrófilos expresan la proteína CRTAM, a 3 horas post estímulo, no se expresa en tiempos iniciales antes de una hora, por lo que se sugiere una síntesis de novo para esta proteína, y que no se encuentra preformada en los neutrófilos.
- Con ayuda de un estudio cinético en neutrófilos activados, se detectó CRTAM desde una hora hasta seis horas encontrándose la mayor expresión a las tres horas post-activación y un declive antes de las 6 horas.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado en el departamento de Biomedicina Molecular del Centro de Investigación y estudios Avanzados, bajo la tutoría del Dr. Vianney Francisco Ortiz Navarrete, a quien agradezco por el apoyo, orientación, conocimientos compartidos y haberme permitido la oportunidad de unirme a su grupo de trabajo haciendo de mi primer verano de investigación una buena experiencia.

Gracias a la M.C. María Orozco González por brindarme tiempo, dedicación y conocimientos, durante la realización de la metodología empleada en este proyecto veraniego.

Agradezco a los integrantes del laboratorio a cargo del Dr. Vianney Francisco Ortiz Navarrete, por compartir sus conocimientos, y manifestar una disposición permanente para escuchar, ayudar y aportar mejoras al proyecto.

Gracias al Programa DELFIN por el apoyo económico otorgado a mi persona.

Referencias

Boles, K. et al. (2005). The tumor suppressor TSLC1/NECL-2 triggers NK-cell responses through the cell surface receptor CRTAM. *Blood* 106:779-786.

Canche, E. (2011). Caracterización de la expresión de CRTAM en linfocitos NKT de humano. Tesis de doctorado, Instituto Politécnico Nacional,

Dessarthe, B. et al. (2013) CRTAM Receptor Engagement by Necl-2 on Tumor Cells

Dustin, M.L.C.A., 2000. Signaling takes shape in the immune system. *Cell* 103, 283–294.

Kennedy J., et. Al (2000) A molecular analysis of NKT cells: identification of a class-I restricted T cell-associated molecule (CRTAM). *Biol.* 67: 725-734.

Krönke m, (1985). Sequential expression of genes involved in human T lymphocyte growth and differentiation. *J Exp Med.* 1985 Jun 1;161(6):1593–1598

Patiño, G. et al. (2006) Human class I restricted T cell associated molecule is highly expresses in the cerebellum and is a marker for activated NKT and CD8+ T lymphocytes. *Journal of Neurology* 17, 145-155.

Valle, R. et al. (2009) Characterization of CRTAM gene promoter: AP-1 transcription factor control it expression in human T CD8 lymphocytes. *Molecular Immunology* 46: 3379-3387.

Volker, B. et al. (2004) Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* 303, 1532- 1535.

Yeh, J. et al (2008) Regulation of a Late Phase of T cell Polarity and effector Functions by CRTAM. *Cell* 13, 846-859.



Efecto del estradiol sobre la expresión del gene catalasa en ratones CBA/Ca infectados con *Plasmodium berghei* ANKA

Mildred Arantxa Peralta Espinoza (Becario Programa Delfin)

mape94@live.com.mx

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Martha Legorreta Herrera (Asesor)

marthal@unam.mx

Facultad de Estudios Superiores, Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México

Resumen

El presente trabajo tiene como propósito principal describir el efecto que tiene el estradiol como hormona sexual sobre la expresión del gene de la enzima catalasa, la cual actúa como sustrato del peróxido de hidrógeno producido por el sistema inmune con el fin de eliminar al parásito Plasmodium spp. La metodología utilizada abarca desde la técnica de extracción de RNA, seguido de la retrotranscripción y por último el método de PCR en tiempo real. En cuanto a los resultados, se menciona la cuantificación de RNA obtenido en el bazo y la PCR en tiempo real del gene β -actina. En conclusión, el proyecto asignado no se concluyó, debido al número de muestras elevado y por falta de tiempo en la estancia de investigación.

Palabras clave: Estradiol, catalasa, *Plasmodium berghei* ANKA

Introducción

El *Plasmodium* es un parásito que se transmite por la picadura de mosquitos anofelinos (*Anopheles*) hembras al huésped vertebrado, produciendo el paludismo o malaria. La malaria es una de las enfermedades que generan mayor número de muertes en el mundo. Las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (ONU) sugieren que más de 250 millones de personas están infectadas con plasmodio y que 2.1 billones de personas (casi la mitad de la población mundial) viven en áreas donde la malaria es común. Además de los enormes problemas de salud causados por la malaria, las consecuencias sociales y económicas de esta enfermedad continúan teniendo un tremendo impacto en las naciones del Tercer Mundo. Después de la Segunda Guerra Mundial, se pensó que la malaria podría erradicarse con el uso de medicamentos antimaláricos y de insecticidas. En muchas áreas del mundo estos intentos fueron exitosos al menos al principio; sin embargo, la propagación de la infección sigue en aumento y desde los años sesenta la malaria ha resurgido en lugares como Asia, Latinoamérica y en los países de África tropical, en donde se presentan nueve de cada diez casos de muerte. A partir de 1981, la malaria ha ocasionado de 20 a 40 millones de decesos (Legorreta y Sánchez, 1998).

En general, los hombres presentan patologías más severas y mayor mortalidad que en las mujeres, debido a que la respuesta inmune es más intensa en éstas, a este fenómeno se le denomina dimorfismo sexual, por lo que es probable que las hormonas sexuales estén involucradas en la resistencia a la enfermedad. La eliminación del parásito

se lleva a cabo en el bazo por células fagocíticas que además de destruir eritrocitos infectados, producen peróxido de hidrógeno que es sumamente oxidante e induce la actividad de la enzima catalasa. Es por ello que en este trabajo se utiliza un modelo experimental de malaria murina para estudiar el efecto de las hormonas sexuales sobre la expresión del gene catalasa (Legorreta y Sánchez, 1999).

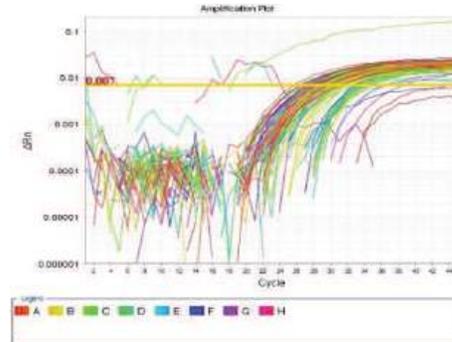
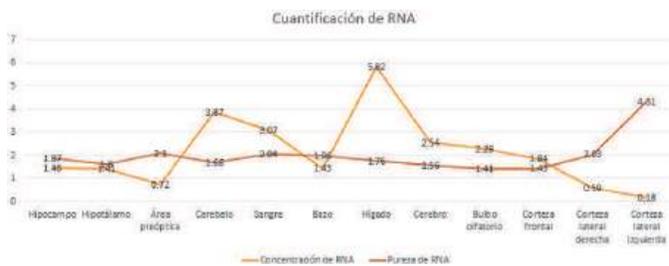
Metodología

Extracción y cuantificación de Ácido Ribonucleico (RNA): En la extracción de RNA del bazo, se coloca en un tubo cubierto por una malla de Nylon y se macera con el émbolo de una jeringa, se utiliza buffer fosfato salino (PBS) libre de calcio y magnesio. Centrifugar a 1000 revoluciones por minuto (rpm) a 4° C durante 15 minutos y desechar el sobrenadante, el botón se resuspende con agitación vigorosa y se adicionan 400 µL de Trizol™, nuevamente se agita hasta que la lisis sea completa y disminuya la viscosidad del tejido, a 500 µL de lisado anterior se le adicionan 150 µL de una mezcla de cloroformo alcohol isoamílico y agitar durante 15 minutos en el vortex, centrifugar a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4° C, recuperar la fase acuosa, evitar tocar la interfase, adicionar 500 µL de alcohol isopropílico, mezclar suavemente y guardar a -70° C hasta su uso, para recuperar el RNA precipitado con alcohol isopropílico centrifugar a 14,000 rpm durante 15 min a 4° C, el sobrenadante se elimina con una micropipeta, adicionar 800 µL de etanol al 80% en agua dietil pirocarbonato (DEPC), centrifugar a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4° C, descartar el sobrenadante con una micropipeta, destapar los tubos y cubrirlos con parafilm, posteriormente realizar pequeños orificios con una aguja (limpia y estéril), colocar los tubos en un lugar limpio y a temperatura ambiente, las muestras se hidratan con 80 µL de agua DEPC al 0.1 estéril, agitar durante 5 minutos, en caso de no disolverse se calienta a 60° C por 5 minutos, centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos a 4° C, para determinar la concentración de RNA se realiza una dilución 1:200 (199 µL de agua destilada estéril + 1 µL de la solución de RNA) y se mide la absorbancia a 260 nanómetros (nm), calcular la concentración de RNA en µg/µL.

Retrotranscripción: Se incuban los tubos a 65° C por 10 minutos utilizando el termociclador e inmediatamente se coloca en hielo por 5 minutos, centrifugar a 14,000 rpm durante 5 segundos y colocar nuevamente en hielo, adicionar 10 µL de la mezcla de retrotranscripción (4 µL de amortiguador First Strand, 0.1 µL de inhibidor de RNAsas, 2 µL de dNTP's 5 mM, 1.7 µL de agua estéril, 0.2 µL de enzima MMLV-RT y 2 µL de ditioeritritol [dT] 0.1 molar), incubar a 37° C por 1 hora utilizando el termociclador e encubar nuevamente a 95° C por 5 minutos.

Resultados

En la cuantificación de RNA se obtiene la concentración de RNA contenido en 1 µL de la dilución 1:200 en cada tejido, así como la pureza de cada uno. En el método de PCR en tiempo real se obtuvo una gráfica, en la cual podemos apreciar la cantidad de DNA amplificado en el eje X y el número de ciclos en el eje Y. El Ct fue de 0.007, lo que nos indica que las muestras que pasaron la línea amarilla amplificaron en su ciclo correspondiente (Figura 1 y 2).



Gráfica 1 y 2. Concentración de RNA y amplificación del gene de la β-actina

Discusión

En la cuantificación de RNA, el tejido con mayor concentración de RNA fue el hígado, con 5.82 µg/µL en comparación con la corteza lateral izquierda que tuvo 0.18. Mientras que el tejido con mayor pureza fue el bazo con 1.96, al ser uno de los tejidos que se encontraban dentro del intervalo óptimo de pureza que va de 1.8-2, comparado con el bulbo olfatorio que tuvo 1.41 (probablemente contaminado con proteínas) y la corteza lateral izquierda con 4.31 (probablemente contaminado con fenol). Para la técnica de PCR, se utilizó el gene β-actina como control positivo, ya

que siempre se expresa de forma constante ya que codifica a una proteína en el citoesqueleto de la célula. Se detectaron 4 muestras (752 R1, 754 R1, 756 R3 y 759 R4) en donde el gene no amplificó, posiblemente el RNA estaba degradado por RNAsas, por lo tanto, se debe realizar de nuevo la técnica de retrotranscripción. En conclusión, debido a la cantidad de grupos de ratones y número de muestras que se obtuvieron, únicamente se amplificó el gene constitutivo y faltó amplificar el gene de catalasa. No obstante, se tuvo la oportunidad de realizar la técnica de PCR en tiempo real para el gene de β -actina además que se dañó el termociclador de tiempo real, no alcanzó el tiempo para la amplificación del gene catalasa que era el gene de interés.

Agradecimientos

A la Dra. Martha Legorreta Herrera por haberme recibido en su laboratorio y haberme dado la oportunidad de realizar mi primer verano de investigación, en el cual adquirí nuevos conocimientos sobre inmunología, parasitología y sobre todo biología molecular. Al QFB. Jesús Aguilar Castro, al QFB. Luis Antonio Cervantes Candelas y al Biólogo Fidel Orlando Buendía González por haberme ayudado en el proyecto durante toda la estancia de investigación.

Referencias

- Legorreta, M. y Sánchez, P.** (1998). La respuesta inmune humoral contra el *Plasmodium*: agente etiológico de la malaria. VERTIENTES, 1 (2): 46-52.
- Legorreta, M y Sánchez, P.** (1999). La respuesta inmune celular contra el *Plasmodium*: agente etiológico de la malaria. VERTIENTES, 2 (1/2): 3-8.



Evaluación de la expresión de GFP EN clonas de células C33A transfectadas con E6*II, producto de Splicing del oncogén E6 del HPV 16.

Juan Manuel Urucha Ortiz (Becario del programa Delfin)

Unidad Académica Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

**Dra. Leticia Cedillo Barrón, Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda y M.C. Carolina Vaisman
(Asesores)**

Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional

Resumen.

*Los virus del papiloma humano de alto riesgo son agentes causantes de la mayoría de los casos de carcinoma cervical, muchas de las habilidades de transformación del epitelio de estos virus son atribuidos a la actividad de los oncogenes E6 y E7. La actividad mejor conocida de E6 es su capacidad para acelerar la degradación de p53. La mayoría de las investigaciones se ha enfocado en estudiar solo el efecto de las formas largas de estos oncogenes y no se ha puesto atención en las formas cortas, es por eso que en el laboratorio se cuenta con un modelo de estudio que consta de clonas celulares C33A (HPV-) transfectadas establemente con las formas cortas. Debido a que la expresión de GFP es una medida de la presencia del monocistrón transfectado, es importante normatizar la cantidad del inserto para no tener sesgos en las evidencias de las proteínas que se evaluarán con posterioridad. Por lo tanto nuestro objetivo fue evaluar la expresión de GFP en clonas de C33A transfectadas con E6*II(C33A E6*II) quien ha sido reportada como prevalente en lesiones de alto riesgo. Se utilizaron las técnicas de western blot y citometría de flujo con las cuales encontramos que existe diferencia de expresión de la proteína GFP. Por lo que hemos llegado a la conclusión de que es de suma importancia seleccionar las clonas antes de realizar un estudio ya que de lo contrario podría ocasionar resultados poco confiables.*

Palabras clave: Carcinoma cervical, Virus del papiloma humano, oncogenes E6 y E7, GFP, monocistrón.

Introducción

El virus del papiloma humano (VPH) es el agente causal en la mayoría de los casos de displasia cervical y el carcinoma cervical invasivo (GM-Clifford *et al.*, 2003). El cáncer cervicouterino (CACU) es un problema importante de salud pública ya que es la segunda enfermedad más frecuente en la población femenina de los países subdesarrollados. Hasta ahora se han identificado aproximadamente 200 tipos diferentes de VPH, 58 de ellos han sido encontrados en la mayoría de los cánceres invasivos (Walboomers *et al.*, 1999; Bosch *et al.*, 2002). La infección con ciertos tipos de VPH como HPV16, 18, 31, 33 y 45 confieren un alto riesgo para el desarrollo de cáncer de cuello de útero, especialmente si la infección es persistente (IARC. Human papiloma viruses, 2011). Entre estos tipos de VPH, el 16 es más frecuente. A nivel mundial, más del 50% de cáncer de cuello uterino (más de 60% en América del Norte y Europa) están asociados con esta tipo de VPH (RJ-Silva 2011).

En el ciclo viral de VPH se expresan genes y pueden ser divididos en “tempranos” (E) y “tardíos” (L), su expresión dependerá de la etapa del ciclo. Los genes tempranos E6 y E7 son requeridos para el desarrollo de las lesiones precursoras de cáncer y para el mantenimiento del fenotipo maligno de las células cancerosas. La oncoproteína E7 se une a los miembros de la familia del Retinoblastoma y los marca para su degradación. Como resultado se libera el factor de transcripción E2F que conduce a la expresión de genes de la fase S del ciclo celular. La oncoproteína E6 asociada a E6AP marca para su degradación a la proteína supresora de tumores p53, e inhibe señales de apoptosis a través de la interacción con TNF-R1, FADD, Caspasa 8 y la degradación de las proteínas pro apoptóticas BAX y BAK. (Boulet- Gaëlet *et al.*, 2007). El descubrimiento de la estrecha relación entre la infección persistente de VPH de alto riesgo y el desarrollo de cáncer cervical inició una rápida expansión en este campo, el cual resulta en la descripción de la función de los oncogenes E6 y E7 en la carcinogénesis cervical. La investigación se ha enfocado en las formas largas de estas proteínas dejando de lado las formas cortas. Es por eso que en el laboratorio se cuenta con un modelo de estudio de clonas de células C33A (HPV-) transfectadas establemente en pGFP, con las formas cortas E6*I, E6*II y E6^E67. Debido a que la expresión de GFP es una medida de la presencia del monocistrón transfectado, es importante normalizar la cantidad del inserto para no tener sesgos en las evidencias de las proteínas que se evaluarán con posterioridad. Por lo tanto nuestro objetivo fue evaluar la expresión de GFP en clonas de C33A transfectadas con E6*II, quien ha sido reportada como prevalente en lesiones de alto riesgo (Lewandosca, 2014).

Metodología

Extracción de proteínas, electroforesis SDS-PAGE y Western blot; para la extracción de proteínas totales las células fueron cultivadas hasta un 80-90% de confluencia en placas de Petri de 100mm. Se lavaron dos veces con PBS 1x (Na₂HPO₄ 8mM, KH₂PO₄ 2mM, NaCl 137 mM pH 7.5) frío y luego se sometieron a agitación orbital 10 minutos a temperatura ambiente con 700µl de buffer de lisis (ProteoJet™) suplementado con inhibidor de proteasas (Complete, Roche). Luego se cosecharon con una espátula y los extractos se obtuvieron mediante 20 minutos de centrifugación a 13000 rpm y a 4°C. La concentración proteica de todos los extractos fue obtenida usando el ensayo de Bradford (Thermo Scientific). Una cantidad de proteínas equivalente a 30µg de cada transfectante se mezclaron con buffer Laemmli y se desnaturalizaron a 96 °C en bloque térmico por 10 minutos. Luego las proteínas se separaron por electroforesis en una cámara Bio Rad (Mini PROTEANT Tetra System) por SDS-PAGE al 15% (Acrilamida-Bisacrilamida 30%- 0.8%, 0.375 M Tris-ClH pH 8.8, 0.1% SDS, 0.05% persulfato de amonio y TEMED) con buffer de corrida Tris-Glicina-SDS (25mM/190mM/SDS 0.05%). A continuación se realizó la transferencia húmeda a una membrana de PDVF de 0.45nm (Perkin Elmer) en cámara Bio-Rad. La membrana se bloqueó con una solución al 5% de leche descremada en TBS (Tris 10mM pH 7.5, NaCl 100mM) suplementado con 1% de Tween20 por una hora en agitación y a temperatura ambiente. Posteriormente se incubó toda la noche a 4°C y en agitación con el anticuerpo primario; se lavó 5 minutos, 3 veces con TBS-Tween y se incubó a temperatura ambiente y en agitación con el anticuerpo secundario por una hora y media. Luego de 3 lavados con TBS 1x se reveló la membrana por quimioluminiscencia (Super Signal West Pico/Femto Chemiluminiscent Substrate de Thermo Scientific; ChemiDoc MP Imaging System). Algunas membranas fueron desnudadas y evaluadas con otro anticuerpo. Los anticuerpos usados fueron: anti GFP (1/1000, Cell Signaling), anti-Mouse (1/5000, Invitrogen) y anti-Goat (1/5000, Thermo Scientific), y anti-actina como control de carga (1/500, proporcionado por el Dr. M. Hernández, Dpto Biología Celular CINVESTAV).

Citometría de flujo; las células fueron crecidas a 37°C con 5% de CO₂ en MEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB), 100U/ml de penicilina, 100ug/ml de estreptomycin y 500ug/ml de G418 (geneticina). El control sin transfectar se manejó bajo las mismas condiciones excepto que al MEM no se le agregó G418. Las cajas fueron lavadas dos veces con PBS 1 X, se agregó tripsina y se dejó 5 minutos a 37 °C, posteriormente se adicionaron 4 ml de PBS 1 X a la caja para suspender, se colocaron en un tubo falcón de 15 ml y se centrifugo a 1200 rpm por 5 minutos a 4°C, se desechó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en 1 ml de PBS 1 X. se centrifugo a 1200 rpm durante 5 minutos y se pasó a un tubo de 5 cm³ para citometría, a continuación las células fueron analizadas por citometría de flujo (BD FACSCalibur™) usando los canales FL-1 (FITC) versus FL-2 (PE).

Resultados

*Las clonas de E6*II muestran diferencias en el nivel de expresión de GFP:* se analizaron 12 extractos proteicos de clonas C33A E6*II mediante Western blot para determinar la expresión de GFP. Se observaron diferencias en el nivel de expresión de GFP en ambos grupos, Clonas I y Clonas II (figura 1).



Figura 1: Western Blot de los niveles de expresión de GFP en clonas C33A E6*II. Se evidencian diferencias tanto en Clonas I como en Clonas II.

Para los procedimientos posteriores de escogió al grupo Clonas II. Se realizó densitometría de las bandas del WB (figura 2) para evidenciar las diferencias entre ellas. A continuación se escogieron cuatro clonas para evidenciar la expresión elevada (H2 y G9) y baja (H7 y F5) de GFP.

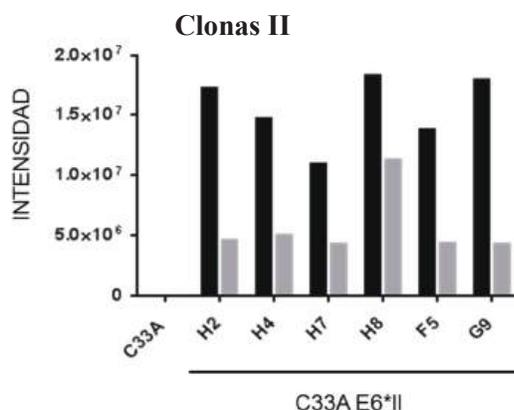


Figura 2: Densitometría del WB de Clonas II. Se evidencia la diferencia en el nivel de expresión de GFP en Clonas II

Fueron descongelados los viales de las clonas seleccionadas, se expandieron mediante cultivo celular, se evaluaron por citometría de flujo y se corroboraron los datos obtenidos en el WB. Las clonas H2 y G9 presentaron mayor fluorescencia que las clonas H7 y F5 (figura 3).

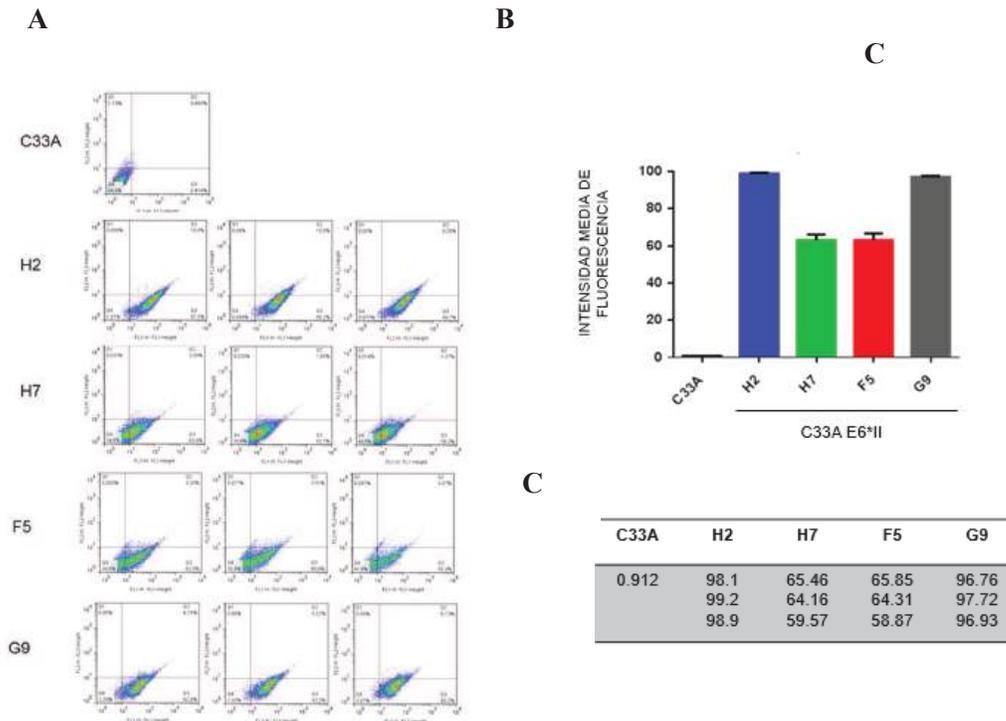


Figura 4: Citometría de flujo. A. Dot Plot donde se observa mayor desplazamiento de la población (GFP +) para H2 y G9 y menos para H7 y F5. Se usa a C33A como control negativo. B. Histograma de la intensidad media de fluorescencia (IMF) de las clonas H2, H7, F5 y G9. C. Tabla con los valores relativos de IMF para cada una de las clonas.

Discusión y conclusión

Se han establecido varios estudios para ver la incidencia de los oncogenes E6 y E7 en distintas vías de señalización. Poco se ha investigado del efecto de las formas cortas de E6 (E6*I y E6*II) (Filippova, 2007). E6*II ha sido reportada como indicador de severidad de CACU (Lewandoska, 2014). Es por eso que nos dimos a la tarea de trabajar con clonas de células C33A (HPV-) transfectadas establemente con E6*II en las cuales evaluamos la expresión de GFP, debido a que la misma, es una medida de la cantidad del inserto transfectado. En nuestros ensayos obtuvimos diferencias en el nivel de expresión de las clonas seleccionadas, siendo H2 y G9 las que más expresan GFP y H7 y F5 las que menos la expresan.

Debido a que las clonas no siempre expresan el mismo nivel del monocistrón podrían ocasionar que los resultados no sean reproducibles. Con este estudio hemos observado que las clonas C33A E6*II tienen diferencias en el nivel de expresión de GFP, por lo es importante seleccionar, para los ensayos posteriores, aquellas clonas que expresen niveles similares del monocistrón. En este estudio logramos identificar diferentes expresiones de GFP de 12 clonas, en base a esto proponemos que se realicen algunos experimentos de la expresión de algunas proteínas que interactúen con E6*II para verificar que las clonas con diferente expresión realmente alteran los resultados de los estudios realizados.

Agradecimientos

Al programa delfin por haberme otorgado la beca y la oportunidad de llevar a cabo esta experiencia, Al Dr. Nicolás Villegas Sepúlveda por permitirme realizar en su laboratorio el verano de investigación, A la Dra. Leticia Cedillo Barrón por haberme aceptado en este verano de investigación y A la M.C. Carolina Vaisman por guiarme en la realización del trabajo experimental y documental

Referencia

- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S.** (2003). Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*; 88:63–73.
- IARC. Human papillomaviruses. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.** (2011); 100B: 1–475. A review of human carcinogens—part B: biological agents, vol. 100B, 2011.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N** (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12–19
- Gaëlle Boulet, Caroline Horvath, Davy Vanden Broeck, Shaira Sahebali, Johannes Bogers,** (2007). Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 2006–2011.
- Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV** (2002) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 55: 244–265
- Silva RJ, Casseb J, Andreoli MA, Villa LL.** (2011). Persistence and clearance of HPV from the penis of men infected and non-infected with HIV. *J Med Virol*; 83(1):127–31.
- Maria Filippova, Melyssa M. Johnson, Marnelli Bautista, Valery Filippov, Nadja Fodor, Sandy S. Tungteakkhun, Kadia Williams, and Penelope J. Duerksen-Hughes** (2007) The Large and Small Isoforms of Human Papillomavirus Type 16 E6 Bind to and Differentially Affect Procaspase 8 Stability and Activity. *Journal of virology* p. 4116–4129.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Evolución del diagnóstico de los Trastornos Temporomandibulares (Criterios de Diagnósticos para los Trastornos Temporomandibulares [CD/TTM])

Raúl Castro Casarrubias (Becario Programa Delfin)

raul_25@hotmail.com

Unidad Académica de Odontología. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Irene Aurora Espinosa de Santillana (Asesora)

irene.espinosa@correo.buap.mx

Facultad de Estomatología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Resumen

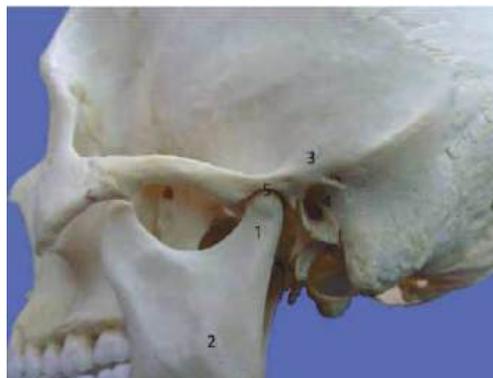
Diagnosticar cualquier patología con los diferentes instrumentos propuestos se convierte en un reto para cualquier profesional de la salud. Los instrumentos existentes para ello muchas veces carecen de fiabilidad y validez. El diagnóstico de los TTM ha evolucionado desde hace muchos años, desde 1992 se establecen los Criterios Diagnósticos para la Investigación de los Trastornos Temporomandibulares (CDI/TTM) propuestos por Dworkin. Posteriormente en 2005, Shiffman propone la revisión de los anteriores y son publicados los Criterios Diagnósticos para los Trastornos Temporomandibulares (CD/TTM), los cuales han demostrado mejoría en la validez y confiabilidad para establecer el diagnóstico de los TTM. Los Criterios Diagnósticos para la Investigación de los TTM (CDI/TTM), originalmente propuestos en 1992 (Eje I “condiciones clínicas” y Eje II “discapacidad relacionada con el dolor y el estado psicológico”), se basaron para su validación en un estudio epidemiológico de 705 participantes clasificados. De éstos, 614 fueron casos de TTM. Para su confirmación se utilizaron tres elementos; la historia clínica completa, la evaluación psicológica y los estudios radiográficos. Los CDI/TTM se denotaron fiables y válidos ya que presentaron una sensibilidad de ≥ 0.70 y una especificidad de ≥ 0.95 . Posteriormente, a través de una serie de talleres y simposios se modificaron los algoritmos mediante comparaciones exhaustivas con literatura del diagnóstico de los TTM. Durante más de 20 años, dichos criterios han sido sometidos a diversos estudios y a partir del 2005 con la propuesta de Shiffman y un grupo de más de veinte especialistas, se establece la 2ª versión de los mismos, denominada CD/TTM. El cambio se denotó en el aumento de su sensibilidad (≥ 0.86) y especificidad (≥ 0.98). La recomendación del uso de los CD/TTM en la investigación y en el entorno clínico se sustenta en la eficacia basada en la evidencia de múltiples estudios. La evolución del instrumento durante 22 años, ha permitido mejorar su validez y confiabilidad para establecer el diagnóstico de TTM.

Palabras clave: Trastornos Temporomandibulares (TTM), Criterios de Diagnóstico para los Trastornos Temporomandibulares (CD/TTM), Asociación Internacional para la Investigación Dental (AIID) y Articulación Temporomandibular (ATM).

Introducción

Los Trastornos Temporomandibulares (TTM) se han descrito con diferentes nombres: desórdenes cráneo-mandibulares, síndrome de Costen (descritos por el otorrinolaringólogo James Costen); también han sido denominados como síndrome doloroso por disfunción temporomandibular, lesión crónica del menisco, disfunción

miofacial, artralgia temporomandibular entre otros, sin llegar a estandarizar la definición, diagnóstico y tratamiento. Los diversos términos han generado confusión, por lo que la Asociación Dental Americana adoptó el término de TTM considerando que este término incluye a la ATM, así como a todos los trastornos asociados con la función del aparato masticatorio. Los Trastornos Temporomandibulares son un problema de salud pública que afecta aproximadamente del 5% al 12% de la población. Éstos abarcan un conjunto de problemas clínicos que comprometen diferentes estructuras anatómicas como: Músculos de la masticación, la Articulación Temporomandibular (ATM) y otras estructuras asociadas. Los TTM se clasifican en musculares, articulares o compuestos. Presentan una etiología de tipo multifactorial, donde se enfatiza el factor biopsicosocial, así como sus factores predisponentes, precipitantes y/o perpetuantes. Con el diagnóstico adecuado de los TTM se puede establecer de forma inmediata y oportuna el plan de tratamiento correcto para restaurar o limitar el daño de la articulación y de los elementos del aparato gnático. Los TTM pueden presentarse con una amplia gama de variantes clínicas, lo que los hace que sea de interés por varios profesionales de la salud. Existen varias formas de diagnosticar los TTM, ejemplo: análisis oclusal: la oclusión puede ser la causa de que aparezca una alteración en la ATM, si existe una situación de inestabilidad maxilomandibular no compensada que provoca una sobrecarga articular, ya sea porque dicha estabilidad genere bruxismo o porque obligue a trabajar a la ATM en una situación de carga desfavorable, Exploración física: debe seguirse adecuadamente una palpación, donde se explora directamente la articulación con movimientos de apertura, de lateralidad, así como palpación de músculos masticadores de forma bilateral, en reposo y durante el movimiento. Diagnóstico por imagen; puede estar dirigido al estudio del tejido óseo o de tejidos blandos, éste es más utilizado para descartar la posibilidad de fracturas, trastornos de crecimiento, no obstante, la imagenología no informa de la presencia o ausencia de un TTM. Existen los Criterios de Diagnóstico para los Trastornos Temporomandibulares que han demostrado validez y confiabilidad para el diagnóstico de los TTM. El diagnóstico de dicha patología no ha sido una tarea fácil y durante muchos años se han hecho esfuerzos multidisciplinarios por contar con un instrumento confiable y válido. Diagnosticar cualquier patología con los diferentes instrumentos propuestos se convierte en un reto para cualquier profesional de la salud. Los instrumentos existentes para ello muchas veces carecen de fiabilidad y validez. El diagnóstico de los TTM ha evolucionado desde hace muchos años, sin embargo a partir de 1992 se establece la validez y confiabilidad de su diagnóstico a través de los Criterios Diagnósticos para la Investigación de los Trastornos Temporomandibulares (CDI/TTM) propuestos por Dworkin. Posteriormente en 2005, Shiffman propone la revisión de los anteriores y son publicados los Criterios Diagnósticos para los Trastornos Temporomandibulares (CD/TTM), los cuales han demostrado mejoría en la validez y confiabilidad para establecer el diagnóstico de los TTM. Para establecer el diagnóstico de cualquier patología, es necesario contar con instrumentos válidos y confiables que aseguren su uso. En el cuadro siguiente se muestra la clasificación de los TTM según la Academia Americana de Dolor Orofacial. El objetivo fue describir la evolución en los CDI/TTM propuestos en 1992 por Dworkin y hasta los CD/TTM propuestos por Shiffman en 2005.



Metodología

Diseño del estudio: observacional comparativo, transversal y unicéntrico: En cuanto a las variables e instrumentos se utilizaron los Criterios de Diagnóstico para la Investigación de los Trastornos Temporomandibulares (CDI/TTM) hechos por Dworkin y los nuevos CD/TTM (Criterios de Diagnósticos para los Trastornos Temporomandibulares) propuestos y aceptados por Shiffman. El cual se observó y comparó en puntos específicos. Eje I de los CDI/TTM (factores físicos): Se basa en las características físicas de los pacientes diagnosticados, los diagnósticos del eje no son excluyentes. Eje II de los CDI/TTM (Factores psicosociales), que incluyen: 1) Grado de dolor crónico, 2) Disfunción mandibular y 3) Somatización y depresión. Eje I (Condiciones clínicas) de los CD/TTM. Eje II (discapacidad relacionada con el dolor y el estado psicológico) de los CD/TTM. Entre estos el protocolo fue expandido para agregar nuevos instrumentos de evaluación como el comportamiento del dolor, estado psicológico, y desenvolvimiento psicosocial, ver tabla 1.

**Clasificación de los Trastornos Temporomandibulares
según la Academia Americana de Dolor Orofacial.**

I. Trastornos de los músculos masticadores

- * Contracción protectora
- * Dolor muscular local
- * Dolor miofacial
- * Espasmo
- * Miositis

II. Trastornos de la ATM

1. Degeneración del cóndilo-disco.
 - * Desplazamiento discal
 - * Dislocación discal con reducción
 - * Dislocación discal sin reducción
2. Incompatibilidad estructural de las superficies articulares.
 - a. Desviación de la forma.
 - * disco
 - * Cóndilo
 - * Fosa
 - b. Adherencias
 - * Disco a cóndilo
 - * Disco a fosa
 - c. Subluxación (hipermovilidad)
 - d. Dislocación espontánea.
3. Trastornos inflamatorios de la ATM
 - a. Sinovitis.
 - b. Capsulitis
 - c. Retrodisquitis
 - d. Artritis
 - * Osteoartritis
 - * Osteoartrosis
 - * Poliartritis
 - e. Trastornos inflamatorios asociados con estructuras vecinas.
 - * Tendinitis temporal
 - * Inflamación de ligamento estilomandibular.

III. Hipomovilidad mandibular crónica

1. Anquilosis
 - * Fibrosa
 - * Ósea
2. Contractura muscular
 - * Miotáctica
 - * Miofibrótica

Bloqueo coronóideo.

IV. Trastornos del crecimiento

1. Trastornos óseos congénitos y del desarrollo
 - * Agenesias
 - * Hipoplasias
 - * Hiperplasias
 - * Neoplasias
2. Trastornos musculares congénitos y del desarrollo
 - * Hipotrofias
 - * Hipertrofias
 - * Neoplasias

Resultados

Los principales cambios de los CDI/TTM (1992), a los nuevos CD/TTM.	
Año	CAMBIOS
1992	Publicación de los CDI/TTM. En base a los expertos se clasifican los TTM más comunes, derivados de los datos clínicos y epidemiológicos. Sistema de doble Eje: Condiciones clínicas (Eje I) y discapacidad relacionada con el dolor y el estado psicológico (Eje II).
2001-2008	Validación del proyecto. Estudio multicéntrico con estándar de referencia para los examinadores. Evaluación completa para la fiabilidad y validez de los CDI/TTM. Se establece la necesidad de revisar los CDI/TTM.
2008	Simpósio en AIID* (Conferencia en Toronto, EE. UU). Revisión de los algoritmos de diagnóstico de los CDI/TTM presentado en la comunidad de investigación internacional. Publicación de la crítica y recomendaciones para mejorar el uso en la investigación.
2009	Taller de consenso internacional para los CDI/TTM en AIID* (conferencia en Miami, EE.UU). Aportación por la Comunidad Internacional de Investigación Clínica Dental y Médica, así como de la defensa para la perspectiva del paciente. Publicación de la crítica y recomendaciones para facilitar el uso en clínica y los entornos de investigación.
2010	Publicación de los principales hallazgos para la validación del proyecto. Los algoritmos de los CDI/TTM revisados proporcionaron criterios clínicos fiables y válidos para los TTM en relación con el dolor. Necesidad de demostrar con imágenes la mayoría de los desplazamientos del disco de la ATM y de las enfermedades degenerativas de las articulaciones. Apoyo a los instrumentos existentes del Eje II. Recomendación para el Desarrollo de los CD/TTM con aporte internacional.
2010	Simpósio por la AIID* (Conferencia en Barcelona, España). Los CD/TTM se presentaron en la comunidad internacional de investigación clínica. Se hizo la crítica y los comentarios sobre el Eje I de los algoritmos de diagnóstico de los TTM más comunes y del Eje II la evaluación del protocolo.
2011	Taller de consenso internacional para los CDI/TTM en AIID* (Conferencia en San Diego, EE.UU). Perfeccionamiento de los algoritmos de diagnóstico del Eje I para los TTM más comunes y menos comunes.
2011-2012	Pruebas de campo para las especificaciones de los examinadores del Eje I y los instrumentos de autoinforme del Eje I y II. Sitios de prueba: Búfalo (EE.UU), Minneapolis (EE.UU), Malmö (Suecia), Aarhus (Dinamarca), Heidelberg (Alemania), y Estocolmo (Suecia).
2012	Finalización de los CD/TTM en conferencia con la AIID* (Cataratas del Iguazú). Además del aporte de los miembros de las organizaciones nacionales e internacionales para el dolor de los TTM. Revisión de los CD/TTM por los participantes de la conferencia de la AIID* 2009.
2013	Estimaciones finales de fiabilidad y validación para el Eje I "Criterios de Diagnóstico". Derivados del conjunto de datos para validación del proyecto e impacto del proyecto en ATM. Finalización de los CD/TTM.

*Asociación Internacional para la Investigación Dental.

Desde la creación de los CDI/TTM en 1992 al 2001; se enfocaron en estructurarlo, es decir, se clasificaron los TTM más comunes, estos derivados de los datos clínicos y epidemiológicos, dieron origen a un sistema de doble Eje (Condiciones clínicas [Eje I] y discapacidad relacionada con el dolor y el estado psicológico [Eje II]). Después de la validación de los CDI/TTM en el 2001, hasta el año 2008 se hicieron los cambios más notables, entre éstos, la

modificación estructural propuesta por Shiffman en el 2005. Para el 2008 se empezó con la estandarización, que consistía en aplicar los CDI/TTM como evaluación completa para tener fiabilidad y validez, en este mismo año se establece la necesidad de revisar los CDI/TTM. Esta revisión se realizó en un simposio con la Asociación Internacional para la investigación Dental (AIID) con sede en Toronto, EE.UU. Después del Taller de consenso con la Comunidad Internacional de investigación Clínica Dental y Médica, en el 2009 (Miami, EE.UU), se publican las críticas y recomendaciones de los CDI/TTM para facilitar su uso en clínica y entornos de investigación. En el 2010 los CDI/TTM, se ven con la necesidad de demostrar con imagenología la mayoría de los desplazamientos del disco de la ATM y de enfermedades degenerativas de las articulaciones. En este mismo año, se empiezan a desarrollar los CD/TTM, en un simposio con la AIID y de gran aporte internacional realizado en Barcelona, España. En este año se enfocaron en la crítica y comentarios sobre el Eje I de algoritmos de diagnóstico de los TTM más comunes y del Eje II sobre la evaluación del protocolo. En una conferencia en San Diego, EE.UU., se realizó un taller de consenso en el 2011 para los CDI/TTM, con fines de perfeccionar los algoritmos de diagnóstico del Eje I en referencia a los TTM más comunes y menos comunes. A partir del 2011 al 2012, se realizaron pruebas de campo para las especificaciones de los examinadores del Eje I y los instrumentos de autoinforme del Eje II (Sitios de prueba: Búfalo (EE.UU), Minneapolis (EE.UU), Malmö (Suecia), Aarhus (Dinamarca), Heidelberg (Alemania), y Estocolmo (Suecia)). En el año 2012 se finaliza con la revisión de los CD/TTM propuesta por Shiffman, en una conferencia con la AIID y con aportación de organizaciones nacionales e internacionales para el dolor de los TTM. En el 2013 se realizan las estimaciones finales de fiabilidad y validación para el Eje I “Criterios de Diagnóstico”; todo esto derivado del conjunto de datos para la validación del proyecto e impacto en la ATM. En este mismo año se finalizan los CD/TTM y es de esta forma como se aplican o conocen actualmente.

Figura. 1. Eje I. Correspondiente al cuestionario de síntomas.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS PARA TRASTORNOS TEMPOROMANDIBULARES CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS	
NOMBRE DEL PACIENTE	FECHA
DOLOR	
1. ¿Ha tenido dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
Si su respuesta fue NO entonces salte a la pregunta 5	
2. ¿Hace cuántos años o meses atrás comenzó su dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos?	
_____ Años _____ meses	
3. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor cualquier dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados en los últimos 30 días?	
Seleccione UNA respuesta <input type="checkbox"/> Sin dolor <input type="checkbox"/> Dolor que aparece y desaparece <input type="checkbox"/> El dolor está siempre presente	
Si su respuesta fue NO a la pregunta 3 entonces salte a la pregunta 5	
4. ¿Las siguientes actividades han cambiado el dolor en su mandíbula, temporales, en el oído o enfrente de los oídos en cualquiera de los dos lados en los últimos 30 días (es decir lo ha mejorado o empeorado)?	
A. Masticar comida de consistencia dura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
B. Abrir su boca o mover su mandíbula hacia adelante o hacia los lados <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
C. Hábitos mandibulares como mantener los dientes juntos, apretar/rechinar los dientes o masticar chicle <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
D. Otras actividades mandibulares tales como hablar, besar o bostezar <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
CEFALEA	
5. ¿Ha tenido cualquier cefalea (dolor de cabeza) que incluya las áreas temporales de la cabeza en los últimos 30 días?	
<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si	
Si su respuesta fue NO a la pregunta 5 entonces salte a la pregunta 8	

6. ¿Hace cuántos años o meses atrás comenzó por primera vez su cefalea (dolor de cabeza) en el área temporal? Años meses
7. ¿Las siguientes actividades han cambiado su cefalea en el área temporal en cualquiera de los dos lados, en los últimos 30 días (es decir la han mejorado o empeorado)?
<p>A. Masticar comida de consistencia dura <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si</p> <p>B. Abrir su boca o mover su mandíbula hacia adelante o hacia los lados <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si</p> <p>C. Hábitos mandibulares tales como mantener los dientes juntos, apretar/rechinar los dientes o masticar chicle <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si</p> <p>D. Otras actividades mandibulares tales como hablar, besar o bostezar <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si</p>
SONIDOS ARTICULARES MANDIBULARES
8. ¿Ha tenido cualquier sonido articular mandibular cuando mueve o utiliza su mandíbula en los últimos 30 días? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
BLOQUEO CERRADO DE LA MANDÍBULA
9. ¿Ha tenido alguna vez su mandíbula bloqueada o atrapada, aún por un solo momento, es decir <u>que no pudiera abrir TOTALMENTE LA BOCA</u> ? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
Si respondió NO a la pregunta 9, entonces salte a la pregunta 13
10. ¿Fue el bloqueo o atrapamiento de su mandíbula lo suficientemente severo para limitar su apertura mandibular e interferir con su habilidad para comer? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
11. ¿Ha tenido su mandíbula bloqueada o atrapada, aún por un solo momento, es decir <u>que no pudiera abrir TOTALMENTE LA BOCA</u> en los últimos 30 días? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
Si respondió NO a la pregunta 11, entonces salte a la pregunta 13
12. ¿Está su mandíbula bloqueada o atrapada actualmente, de manera que <u>no puede</u> ABRIR TOTALMENTE LA BOCA? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
BLOQUEO ABIERTO DE LA MANDÍBULA
13. ¿Cuando abrió su boca ampliamente en los últimos 30 días, su mandíbula se bloqueó o atrapó aún por un momento, de manera que <u>no pudo cerrarla</u> desde esa posición de máxima apertura? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
Si su respuesta fue NO a la pregunta 13, entonces ya has terminado
14. ¿Cuando su mandíbula se bloqueó o atrapó en una apertura amplia en los últimos 30 días, tuvo que hacer algo para poder cerrarla incluyendo: descansar, moverla, empujarla, o manipularla? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No sabe <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> L
Demográficos
¿Cuál es su estatus de pareja actual? <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Viviendo como casado <input type="checkbox"/> Divorciado <input type="checkbox"/> Separado <input type="checkbox"/> Viudo <input type="checkbox"/> Nunca se ha casado
¿Cuál es su origen étnico? <input type="checkbox"/> Hispano o latino <input type="checkbox"/> No hispano o latino <input type="checkbox"/> Desconocido <input type="checkbox"/>
¿Cuál es su raza? Marque todas las necesarias <input type="checkbox"/> Indoamericano <input type="checkbox"/> Nativo de Alaska <input type="checkbox"/> Asiático <input type="checkbox"/> Negro o Afroamericano <input type="checkbox"/> Nativo Hawaiano u otra isla del pacífico <input type="checkbox"/> Blanco <input type="checkbox"/>
¿Cuál es el máximo grado de estudios que ha completado? <input type="checkbox"/> Secundaria o menos <input type="checkbox"/> Preparatoria <input type="checkbox"/> Licenciatura <input type="checkbox"/> Posgrado
¿Cuál es el ingreso anual de la familia? Por favor incluya todas las fuentes de ingreso de todos los miembros de la familia, tales como: salarios, ganancias, inversiones

Figura 2. Correspondiente al Eje II. Evaluación clínica con comandos específicos

Evaluación Clínica de los CD/TTM		Fecha de evaluación (dd-mm-aaaa)									
Paciente _____	Evaluador _____	<table border="1" style="width: 100%; height: 30px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 5%; border: 1px solid black;">-</td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 5%; border: 1px solid black;">-</td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> <td style="width: 15%; border: 1px solid black;"> </td> </tr> </table>			-			-			
		-			-						
1a. Localización del dolor: En los últimos 30 días (Seleccionar todas las que apliquen)											
DOLOR DERECHO		DOLOR IZQUIERDO									
<input type="radio"/> Ninguno <input type="radio"/> Temporal <input type="radio"/> Otros músculos <input type="radio"/> Estructuras <input type="radio"/> Masetero <input type="radio"/> ATM <input type="radio"/> no masticatorias		<input type="radio"/> Ninguno <input type="radio"/> Temporal <input type="radio"/> Otros músculos <input type="radio"/> Estructuras <input type="radio"/> Masetero <input type="radio"/> ATM <input type="radio"/> no masticatorias									
1b. Localización de la cefalea: En los últimos 30 días (Seleccione todos los que apliquen)											
<input type="radio"/> Ninguno <input type="radio"/> Temporal <input type="radio"/> Otros		<input type="radio"/> Ninguno <input type="radio"/> Temporal <input type="radio"/> Otros									
2. Relaciones incisales Diente de referencia <input type="radio"/> 11 <input type="radio"/> 21 <input type="radio"/> Otro: _____											
Sobre-mordida Horizontal <input type="radio"/> Negativa <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm				Sobre-mordida Vertical <input type="radio"/> Negativa <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm Desviación línea media Der Izq N/A <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm							
3. Patrón de apertura (Complementario) Seleccione uno.			Desviación no corregida								
<input type="radio"/> Recto <input type="radio"/> Desviación corregida		<input type="radio"/> Derecha <input type="radio"/> Izquierda									
4. Movimientos de apertura											
A. Apertura sin dolor <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm											
B. Apertura máxima no asistida <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm											
C. Apertura máxima asistida <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm											
D. Interrumpida <input checked="" type="radio"/> NS											
		LADO DERECHO	LADO IZQUIERDO								
		Dolor Dolor familiar Cefalea familiar	Dolor Dolor familiar Cefalea familiar								
		Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
5. Movimientos laterales y protrusivos											
		LADO DERECHO	LADO IZQUIERDO								
		Dolor Dolor familiar Cefalea familiar	Dolor Dolor familiar Cefalea familiar								
A. Lateralidad Derecha <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm				Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS						
		Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
B. Lateralidad Izquierda <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm				Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS						
		Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
C. Protrusión <table border="1" style="width: 40px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr><td> </td><td> </td></tr> </table> mm				Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Temporal <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS						
		Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Masetero <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	ATM <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	Otros músc. M <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
		No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS	No-mast <input checked="" type="radio"/> NS <input checked="" type="radio"/> NS								
<input type="radio"/> Negativo											

6. Ruidos articulares durante los movimientos de apertura y cierre

ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA						
	Evaluador		Paciente	Chasquido con dolor	Dolor familiar		Evaluador		Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar
	Apertura	Cierre					Apertura	Cierre			
Chasquido	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	Chasquido	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
Crepitación	N/S	N/S				Crepitación	N/S	N/S	N/S		

7. Ruidos de la ATM durante los movimientos de Lateralidad y Protrusión

ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA						
	Evaluador		Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar		Evaluador		Paciente	Chasquido c/dolor	Dolor familiar
	Chasquido(click)	Crepitación					Chasquido(click)	Crepitación			
Chasquido(click)	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	Chasquido(click)	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
Crepitación	N/S	N/S				Crepitación	N/S	N/S			

8. Bloqueo (luxación) articular

ATM DERECHA					ATM IZQUIERDA				
	Luxación	Reducción			Luxación	Reducción			
		Paciente	Evaluador			Paciente	Evaluador		
Durante apertura	N/S	N/S	N/S	N/S	Durante apertura	N/S	N/S	N/S	N/S
En máxima apertura	N/S	N/S	N/S	N/S	En máxima apertura	N/S	N/S	N/S	N/S

9. Dolor muscular y de ATM con la palpación

LADO DERECHO					LADO IZQUIERDO				
(1 Kg)	Dolor	Dolor familiar	Cefalea familiar	Dolor referido		Dolor	Dolor familiar	Cefalea familiar	Dolor referido
Temporal (posterior)	N/S	N/S	N/S	N/S	Temporal (posterior)	N/S	N/S	N/S	N/S
Temporal (medio)	N/S	N/S	N/S	N/S	Temporal (medio)	N/S	N/S	N/S	N/S
Temporal (anterior)	N/S	N/S	N/S	N/S	Temporal (anterior)	N/S	N/S	N/S	N/S
Masetero (oríen)	N/S	N/S	N/S	N/S	Masetero (oríen)	N/S	N/S	N/S	N/S
Masetero (cuerpo)	N/S	N/S	N/S	N/S	Masetero (cuerpo)	N/S	N/S	N/S	N/S
Masetero (inserción)	N/S	N/S	N/S	N/S	Masetero (inserción)	N/S	N/S	N/S	N/S

ATM	Dolor	Dolor familiar	Dolor referido		Dolor	Dolor familiar	Dolor referido
Polo lateral (0.5 kg)	N/S	N/S	N/S	Polo lateral (0.5 kg)	N/S	N/S	N/S
Alrededor del polo lateral (1 kg)	N/S	N/S	N/S	Alrededor del polo lateral (1 kg)	N/S	N/S	N/S

10. Músculos complementarios (0.5 Kg)	Dolor	Dolor familiar	Dolor referido		Dolor	Dolor familiar	Dolor referido
Región mandibular posterior	N/S	N/S	N/S	Región mandibular posterior	N/S	N/S	N/S
Región submandibular	N/S	N/S	N/S	Región Submandibular	N/S	N/S	N/S
Área del pterigoideo lateral	N/S	N/S	N/S	Área del pterigoideo lateral	N/S	N/S	N/S
Tendón del temporal	N/S	N/S	N/S	Tendón del temporal	N/S	N/S	N/S

13. Comentarios

Discusión

De acuerdo a la bibliografía para el diagnóstico de los TTM, no había ningún instrumento específico que te asegurara del padecimiento del paciente, sin embargo, el conjunto de problemas biopsicosociales y la relación con los efectos sistémicos en el paciente. El nuevo CD/TTM en sus apartados “Eje I” y “Eje II”, son basados en evidencia de diferentes protocolos que pueden implementarse inmediatamente en la clínica o en la investigación. Este instrumento se ha mostrado valido y confiable. Erróneamente se creía que la imagenología podía usarse para el diagnóstico de los TTM, hoy en día solo sirven como auxiliar y descartar algún trauma de otro tipo como las fracturas mandibulares. El uso del CD/TTM tiene como uso estricto los comandos para poder dar instrucciones al paciente de cómo hacer los movimientos, o de cómo percibir los sonidos, esto en el caso del Eje II. El rellenar todos los reactivos de la entrevista y evaluación deben ser complementados a menos que el paciente se rehúse o sea incapaz de cooperar. Las únicas barreras físicas que hasta el momento se han presentado con aquellos pacientes que a la evaluación asistan con barba, collarín cervical, el cabello trenzado, o cualquier otra barre potencial, la cual pudiera interferir con la evaluación.

Conclusión

La evolución del instrumento CD/TTM durante 22 años, ha permitido mejorar su validez y confiabilidad para establecer el diagnóstico de TTM. La reducción del CD/TTM ha permitido el diagnóstico preciso enfocado a los TTM, ya que lo adecúa a una variedad fácil de presentación. Es de gran importancia que en el área profesional se ponga en práctica con una previa capacitación y estandarización para un diagnóstico válido y confiable.

Agradecimientos

Al programa Delfin por darme la oportunidad de tener la experiencia de elaborar una investigación que para mi formación y desarrollo profesional será de vital importancia. A la DC. Irene Aurora Espinosa de Santillana; quien se preocupó de que mi estancia de investigación fuera integra en el aspecto académico, y de ser participe en las revisiones necesarias para que este artículo tuviese la mayor confiabilidad y validez informativa. A mis padres, abuelos y hermano quien estuvo pendiente de lo que necesitara en mi estancia. A la Dra. Alicia García Verónica quien estuvo a cargo de todos los trámites necesarios para que la estancia fuera posible y al Lic. Daniel Ecatzin Vega Vázquez por el apoyo moral que me ha estado dando para no dejarme rendir en este tan duro camino de formación académica.

Referencias

- Eric Schiffman, Ohrbach, Truelove.** (2014). Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: Recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network* and Orofacial Pain Special Interest Group. *Journal Orofacial Pain*, Quintessence Publishing CO. Inc. Vol. 28, Núm. 1. Pp. 6-22.
- Lescas Méndez Octavio, Hernández, Sánchez.** (2012). Trastornos Temporomandibulares (review), *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, Vol. 55, N°1. Pp. 4-10.
- Okenson JP.** Etiología e Identificación de los Trastornos Funcionales del Sistema Masticatorio. Mosby-Doyma, Núm. 3. Pp.149-77.
- Andreu Yolanda, Galdón.** (2005). Los Factores Psicológicos en los Trastornos Temporomandibulares. *Red de revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. Vol.17, núm. 1. Pp. 101-105.
- Charles S. Greene, DDS.** (2001). The Etiology of Temporomandibular Disorders: Implications for Treatment. *Journal of Orofacial Pain*. Vol. 15, Núm. 2. Pp.93-101.
- Dugashvili G, Menabd G.** (2013). Temporomandibular Joint Disorder, *Georgian Medical News*, Vol. 215, Núm.2. Pp. 17 – 19.
- Walter Guralnick, D.M.D., Leonard B. Kaban.** (2010). Temporomandibular-Joint Afflictions, *The New England Journal of medicine*, Vol. 299. Pp.123-129
- Goncalves Daniela A. G.** (2010). Headache and Symptoms of Temporomandibular Disorder: An Epidemiological Study. *Journal Compilation*. Vol. 50. Pp. 231-241.
- Learreta Jorge A.,** (2009). Current Diagnosis of Temporomandibular Pathologies. *The Journal Craneomandibular Practice*, Vol. 27, Núm. 2. Pp. 125-130.
- Steven B. Graff-Radford.** (2007). Temporomandibular Disorders and Headche, *Dental Clinics of North America*, Vol. 51, Núm. 1. Pp. 129- 140.



Experiencias de la mujer en el climaterio

Genaro Emmanuel Arredondo Ramos, Yuridia Mosso Espinobarros y Thania Maleny Delgado Díaz (Becarios Programa Delfín)

gmanuell@hotmail.com, yuri_mosso@hotmail.com y
thaniamalenydelgado@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería No.4. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. María Dolores Martínez Garduño (Asesor)

Facultad de Enfermería y Obstetricia. Universidad Autónoma del Estado de México.

Resumen

El presente estudio arrojó que uno de los principales problemas es que las mujeres en su mayoría viven el climaterio de forma negativa y no plena por distintas causas, una de las principales es la falta de información, la información distorsionada o inadecuada no permiten un aprendizaje de estas sobre la etapa que están viviendo, por lo que se puede observar que las experiencias durante este periodo son más negativas que positivas. La recolección de los datos se realizó a través de una entrevista semiestructurada, a mujeres de 45 a 59 años de edad, la misma fue grabada para una mejor recopilación de los datos. Dicha entrevista se realizó a 7 personas tomando una como prueba piloto. Durante el estudio se encontró que gran parte de las mujeres carecía de información sobre el climaterio, poseía malas experiencias durante esto e ignoraba los beneficios del autocuidado y las acciones que tenía que realizar para obtener una mejor calidad de vida.

Palabras clave: Experiencias, climaterio, conocimiento, autocuidado

Introducción

Actualmente en México según la CONAPO en 2013 hay 118, 395, 054 habitantes en el territorio nacional, de los cuales 60.6 millones son mujeres y que representa al 51. 2 % de la población total. Entonces hablando de una proyección a futuro, la población femenina va ser mucho mayor que en la actualidad y el personal de salud y principalmente de enfermería tendría que dedicarse más, en este caso a la educación de la mujer, antes y cuando llegue al climaterio, innovando nuevas estrategias que cubran las necesidades de cada mujer. Hay que entender que el climaterio es una etapa, que comprende las tres fases que cada mujer tiene que pasar algún momento de su vida, como es la pre menopausia, peri menopausia, y posmenopausia, y que se caracterizan por una serie de signos y síntomas debido a la carencia de hormonas, principalmente de estrógenos, hay que verlo como un proceso de

envejecimiento durante el cual, la mujer pasa de su etapa reproductiva a la que ya no lo es. Con el fin que sea un concepto claro y preciso, para que cada mujer pueda entenderlo como tal. Recientemente se han realizado estudios previos enfocados al climaterio, y datos obtenidos lo relacionan principalmente al miedo al mismo, sin importar lugar de origen, estado, país, ni continente. Dicho esto temen llegar a la etapa y ser etiquetadas como climatéricas o menopáusicas, términos que se utilizan peyorativamente. Podemos encontrar construcciones sociales e históricas de la experiencia del climaterio que tienen importantes implicaciones para las mujeres y que persisten estereotipos que insinúan que el climaterio es un hecho asociado a la pérdida de la juventud y la sexualidad. Se debe reconocer que el climaterio, no debe entenderse como un acontecimiento de amplitud fisiológica y de enfermedad, si no como una etapa de nuevas experiencias positivas en la vida de la mujer. Por eso es importante saber las experiencias de la mujer en el climaterio, porque ayudará a comprender si necesitan algún tipo de ayuda en especial, si están satisfechas con su vida y si viven de una forma plena, o por el contrario son atosigadas por las modas impuestas por la sociedad, donde el éxito y la belleza están representados por la juventud.

Aspectos que las sociedades atribuyen y que no muchas veces se debe a ello, porque también influyen factores que vienen con la edad, y los estilos de vida de la personas. Otros aspectos destacan la actitud de la pareja, familia y entorno en general, el papel del cambio socio familiar, que incluye cambio de roles por síndrome de nido vacío o nido lleno, la puerta giratoria, la jubilación, el declive de la libido y la aparición de enfermedades. Es importante tocar diferentes aspectos en la vida de la mujer, conociendo qué es lo que sienten y cuáles son las necesidades de cada una de ellas, cumpliendo con nuestro objetivo principal, que es conocer las experiencias de la mujer en el climaterio, percatándonos de los diferentes puntos de vista y valorando cada uno de los enfoques que plantemos. Obteniendo cuatro categorías en el análisis de datos, la primera acerca de la información que tienen las mujeres del climaterio y menopausia, y sus fuentes de información, la segunda las experiencias que abarcan diversos aspectos como psicológicos, físicos, sociales y sexuales, incluyendo también las actividad física que realizan, otra categoría son los sistemas de apoyo, con los que cuenta la mujer, a la cual interviene la pareja y el apoyo que le proporciona, y por último cuales acciones de autocuidado tienen las mujeres en esta etapa. Todo esto con el fin de crear nuevas estrategias de intervención que favorezcan el autocuidado, y la educación de la mujer que concienticen y conozcan las virtudes que tienen al entrar a esta etapa, y también para terminar con mitologías y estereotipos que etiquetan a la mujer a lo largo de su vida.

Esta investigación tiene un enfoque cualitativo, basada en la fenomenología, de tipo descriptivo transversal, donde el universo de estudio son mujeres de 45 a 59 años de edad, del municipio de Toluca de Lerdo, Estado de México, teniendo como muestra a 6 mujeres, sujeta a saturación de datos, con un muestreo no probabilístico, aplicándoles entrevistas semiestructuradas de tres preguntas que consistían de diez a veinte minutos, y que respectivamente fueron grabadas. Se considera importante que se tome en cuenta, que existen diferentes vivencias durante este periodo y, que se considere que enfermería llegue a jugar un papel importante en el proceso de atención de esta etapa de la mujer, donde se pueda ofrecer por parte de estos profesionales una atención holística e integral durante el climaterio, y que no solo vaya orientado a la detección de enfermedades durante esta edad, sino también donde se pueda ofrecer educación para mejorar la salud y lograr una mejor calidad de vida.

En los últimos años, hablar de climaterio en las mujeres ha sido de gran importancia a nivel mundial, y se han incrementado los avances relacionados a la investigación principalmente al uso de terapia hormonal, pocos se relacionan con la orientación temprana para el cuidado y atención integral -cambios o procesos fisiológicos, endocrinos, psicosexuales, laborales, sociales y familiares-, en las diferentes fases del climaterio (premenopausia, perimenopausia y posmenopausia). El climaterio y la menopausia son procesos naturales y normales en la vida de las mujeres; por tal motivo, deben erradicarse los estereotipos socioculturales que conforman mitos opresores y discriminatorios, respecto de esta etapa vital. Hasta hace algunos años las mujeres veían la menopausia como un fenómeno natural y biológico que para muchas significaba “El principio del Fin”, incluso actualmente los profesionales de la Salud, los medios de comunicación y hasta la industria farmacéutica coinciden en que este periodo puede significar un menoscabo de la Salud de la Mujer y en ocasiones una merma en su calidad de vida, sin embargo insisten en que debe ser considerada como una etapa más en la vida y no una enfermedad. El climaterio puede representar para la mujer dos aspectos diferentes en lo que se pueden obtener resultados positivos y negativos, los positivos para quien tiene pareja, una forma de no preocuparse más por un simple embarazo, y disfrutar plenamente de su sexualidad. Hablando también de un periodo que de acuerdo con Erickson una revaloración de lo vivido y de lo que queda por vivir de la edad madura en la mujer climatérica. Por otro lado está el aumento de riesgo para la salud, como son la osteoporosis y enfermedades cardiovasculares; desde el punto de vista psicosocial esta la ambivalencia al “nido vacío”, la jubilación y la “puerta giratoria”, donde los hijos se van, pero después regresan, generando estrés y problemas físicos y, psicosociales.

En este sentido, hay diferentes percepciones que tiene cada mujer durante el climaterio; también su pareja toma un papel fundamental en esta etapa, y el estilo de vida. A esto con el objetivo de conocer la opinión de las mujeres acerca del climaterio, lo cual se plateo la siguiente pregunta de investigación, ¿Cuál es la experiencia de la mujer durante su climaterio?

Metodología

De acuerdo a la naturaleza de los datos, la presente investigación tiene un enfoque cualitativo, basada en fenomenología, de tipo descriptivo y transversal. Fenomenológica por que busca conocer el significado que los individuos dan a su experiencia y, lo importante que es aprender el proceso de interpretación por el que la gente define su mundo y actúa en consecuencia. Descriptivo por que consiste en conocer las situaciones y transversal porque la medición que se realiza es en un tiempo determinado. El universo de la investigación estudiado, son mujeres que están en la etapa del climaterio entre la edad de 45 a 59 años, en el municipio de Toluca de Lerdo, Estado de México. La muestra está sujeta a la saturación de datos. Como prueba piloto se realizó una entrevista semiestructurada, en forma de ejercicio para tomar como guía las preguntas y utilizarla en las entrevistas. Aplicando entrevistas semiestructuradas de tres preguntas que consistían de diez a veinte minutos, y que respectivamente fueron grabadas. El muestreo es no probabilístico.

Procedimiento; La fase teórica: En esta fase se recolectó toda la información sobre el climaterio a través de bases de datos como: Redalyc, Scielo, Google Académico, y revistas científicas como: Aquichan, Revista de Enfermería del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), International of nursing; así como también se sustentó la información de diferentes autores como: Diane Papalia, Álvarez Gómez, Barbara, Dra. Dalis, Entre otros; al igual se sustentó en dependencias como la OMS, Secretaria de salud (SS) y Women's Health. La fase empírica: Se realizó una entrevista semiestructurada la cual fue grabada para mayor riqueza de datos, a mujeres en las edades de 45 a 59 años, de la ciudad de Toluca y la fase analítica: De acuerdo a los datos obtenidos, se analizaron los resultados, para así llegar a los objetivos deseados.

Resultados

Los resultados de la presente investigación, son allegados a los esperados, se entrevistaron a seis mujeres dentro de las edades de 45 a 59 años, y obtuvieron cuatro categorías donde se habla primeramente de los conocimientos que se tienen acerca de climaterio, relacionándose a la información correcta que tiene las mujeres del climaterio y menopausia y cuál ha sido su fuente de información, para eso los resultados que se obtuvieron fueron que la mayoría de la mujeres entrevistadas no sabía, y que además, de ya haber acudido a pláticas, con sus ginecólogos, y también con el personal de enfermería no tiene claro ambos conceptos y que otras fuentes de información son sus amistades, esposos o familiares. Por otra parte las experiencias durante el climaterio, tanto en aspectos físicos, psicológicos, sociales y sexuales, a esto en la forma de sentir de la persona en este caso de nuestras entrevistadas, se pudo apreciar desde los pequeños detalles que las hacen sentirse bien y mal, mal en los aspectos que dicen sentirse incomprendidas, y por los signos y síntomas como los bochornos, dolores de cabeza, como también manifiestan una menstruación irregular que se les llegan a presentar cada tres, cinco, nueve meses, y que suele durarle más días de lo normal, como de 8 a 15 días. Dentro de los aspectos positivos no manifestaban ningún otro síntoma, que han llevado una menopausia tranquila y las ventajas que tienen porque ya no menstrúan y no hay embarazos.

En los aspectos psicológicos la mayoría presenta cambios de humor, de tristeza, además dicen sentirse viejas y que ya no rinden en sus actividades, En el aspecto sexual, de las seis entrevistas cinco tiene pareja y sus respuestas más comunes manifiestan no soportarse, y que llevan una vida sexual normal. Otro aspecto son los sistemas de apoyo, en ellos las necesidades que tiene la mujer climaterica, además si recibe apoyos de su pareja o familia, de las cuales se obtuvieron datos muy negativos, porque los maridos no las apoyan y al contrario solo se la pasan peleando, por otra parte muchas de las mujeres manifiestan no necesitar ayuda alguna, que todo está normal o porque ellas no tienen tiempo.

Discusión

Pelcastre, Garrido y León (Pelcastre, Garrido, & De León, 2001) en su artículo mencionan que mediante el análisis de las entrevistas observaron en las mujeres de entre 40 y 50 años una preocupación y un alivio con relación a la menopausia y climaterio; la primera está relacionada con síntomas como intensas hemorragias, bochornos y dolores de cabeza referidos por otras mujeres de mayor edad cuya experiencia no ha sido muy favorable. El alivio se presenta ante la desaparición del constante temor a quedar embarazadas; aunada a ello aparece también una atribución de orientación negativa relacionada con el envejecimiento, cuya caracterización se basa en ideas como pérdida de energía, achaques e imposibilidad de cumplir con su papel social reproductivo. Aunque nuestro estudio abarcaba a mujeres de 45 a 59 años de edad, concordamos con estos autores al decir que las mujeres veían en esta etapa tanto beneficios como preocupaciones. Según Pelcastre y col. (Pelcastre, Garrido, & De León, 2001) La vivencia de la menopausia y el climaterio no depende únicamente de las características del propio evento, si no que se ve alimentada por otras representaciones como la experiencia más amplia del ser mujer, en donde el ejercicio de la capacidad reproductiva adquiere un peso importante; la forma de observarse físicamente, manifestada mediante mitos; lo que significan la sexualidad, la menstruación, la fertilidad, la vejez; construcciones todas ellas formadas socialmente y en tanto que éste es su carácter, han permeado la identidad de las mujeres. Concordamos con ella, ya que por lo que hemos observado la vivencia de esta etapa, está sujeta a muchos factores como el nivel socio-cultural, herencia, nivel socioeconómico y el alcance que tienen a los servicios de salud. Estamos de acuerdo con Prior y Pina (Prior Pellicer & Pina Roche, 2011) que sería interesante realizar investigaciones futuras que continuaran averiguando estas percepciones de manera que se dieran a conocer sus sentimientos, sensaciones, así como estereotipos existentes, identificando puntos donde enfermería podría actuar y evaluando el efecto de la educación para la salud ofrecida, o participando en un plan de atención a la mujer que se considere más integral y que atienda de forma más holística las necesidades de salud de la mujer climatérica. Ya que aún falta mucho por saber sobre este tema y pocas investigaciones hablan de los sentimientos y las experiencias que tienen las mujeres durante el climaterio y en muy pocas se involucra enfermería.

Conclusiones

Se considera importante el que se tome en cuenta que existen diferentes vivencias durante este periodo y que se considere que enfermería llega a jugar un papel importante en el proceso de atención de esta etapa de la mujer, donde se pueda ofrecer por parte de estos profesionales una atención holística e integral durante el climaterio, y que no solo vaya orientado a la detección de enfermedades durante esta edad, sino también donde se pueda ofrecer educación para mejorar la salud y lograr una mejor calidad de vida.



Factores que influyen en el trabajador de salud para no utilizar solución alcoholada en la realización de higiene de manos

Francisco Javier Bautista Quiroz, Oscar Israel Pantaleón Martínez (Becarios Programa Delfin)

sumer_sweety06@hotmail.com, israeli94@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería N°3. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Mercedes Macías Parra (Asesor)
Infectóloga Pediatra

Resumen

Para determinar las causas del porque el personal de salud del INP no utiliza solución alcohol gel para higiene de manos, se llevó a cabo un estudio observacional donde se aplicaron encuestas mismas que permitieron determinar por qué no se utilizan alcohol gel para la higiene de manos. Los resultados fueron que las causas son imputadas al personal ya que solo 18.5% consideró importante la higiene de manos con alcohol gel, lo prefería y consideraba efectivo.

Palabras clave: Alcohol Gel (PBA), Higiene de Manos (HM), soluciones alcoholadas.

Introducción

La higiene de manos (HM) es la medida primaria para reducir infecciones asociadas a la atención de la salud anteriormente llamadas intrahospitalarias o nosocomiales, es reconocida mundialmente como una de las medidas más importantes para prevenir y controlar la diseminación de las enfermedades infecciosas en las unidades de atención médica y es un elemento esencial de las precauciones estándar. Evita la difusión de la resistencia antimicrobiana; en especial el uso del alcohol gel reduce en gran cantidad la presencia de elementos nocivos en las manos tales como; bacterias y hongos que pueden ser causantes de múltiples enfermedades prevenibles.

La transmisión de patógenos asociada con la atención de la salud se produce mediante contacto directo e indirecto, gotitas, aire o un vehículo común. El contagio mediante manos contaminadas de los trabajadores de la salud es la forma más común en la mayoría de las situaciones. Buscando nuevas estrategias para mejorar el cumplimiento de higiene de manos se decide presentar mediante un concepto resumido esta simple medida de higiene de manos concentrando su realización en sólo cinco indicaciones. Esto tiene la intención de facilitar la comprensión de los momentos en los que existe un riesgo de transmisión de gérmenes por medio de las manos de modo que el personal de salud los memorice y los integre a las actividades de atención del paciente. «Los cinco momentos para la higiene de las manos» se propone como un modelo para la apropiada realización, enseñanza y

evaluación de la higiene de las manos. Los 5 momentos para la higiene de manos son; 1) antes del contacto directo con el paciente, 2) antes de realizar una tarea limpia o aséptica, 3) después de exposición a fluidos corporales, 4) después del contacto con el paciente y 5) después del contacto con el entorno del paciente.

La importancia de este sencillo procedimiento, no ha sido suficientemente reconocida por personal de salud y su incumplimiento se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios. Con esta investigación se permitirá realizar un estudio que exponga las razones de porque el personal de salud no utilizan solución PBA para higiene de manos. Consideramos que la investigación es un primer paso e influirá positivamente a la realización de futuros estudios sobre esta problemática, en otras instituciones que velen por la seguridad de sus pacientes y su personal.

Metodología

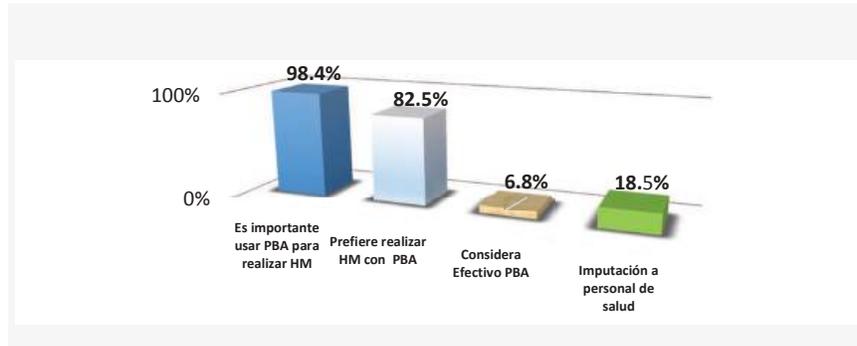
El primer paso para realizar la investigación fue determinar el problema, el cual compete a la línea de la salud, por lo que se decide realizar un estudio *observacional, prolectivo, transversal, descriptivo* en el Instituto Nacional de Pediatría dentro del periodo de julio-agosto 2014, incluye personal de salud de la institución que se encuentre realizando actividades de atención de la salud en el período de estudio.

A los participantes se les invitó a llenar una encuesta, la cual incluyeron datos epidemiológicos y algunos reactivos se enfocaron a investigar las causas por las que no se realiza higiene de manos con alcohol gel, el conocimiento de realización de higiene de manos durante los 5 momentos y la preferencia de método para realizar higiene de manos con agua y jabón o con solución alcoholada. La encuesta se aplicó en los servicios de hospitalización al personal que acepte voluntariamente contestarla, se determina se dirige solo al personal médico y de enfermería. El cuestionario está realizado con preguntas cerradas, y entendibles corroborado mediante un estudio piloto donde se aplicó un cuestionario previo y se realizaron modificaciones pertinentes del mismo. Las respuestas de las encuestas se integraron a una base de datos de Excel la cual se analizará mediante frecuencias simples y medidas de tendencia central. Los resultados obtenidos se presentan mediante cuadros y graficas determinando la solución a los objetivos planteados resolviendo la pregunta de investigación.

Resultados

Se realizaron 365 encuestas, el 82% del personal encuestado contestó en forma completa sin embargo de los que contestaron en forma incompleta contestaron más del 65% de la encuesta. Un 12% de los encuestados no respondió las preguntas para determinar el grado de conocimiento de los 5 momentos sin embargo esto se consideró como que desconocían los conceptos. El 75.6% de la población de estudio pertenece al sexo femenino, predominando tanto en el grupo de enfermería como médico (92.6% vs 51.7% respectivamente). La diferencia de sexo entre los grupos es estadísticamente significativa $p > 0.0001$. El promedio de edad fue de 34 años de edad, (rango 20-63 años), DE 9.1. El personal de enfermería es más joven que el medico (promedio de 28 años vs 39 años). El grupo de edad de personal de salud que prevaleció fue la de los 20-29 años de edad (44.1%), seguida por el grupo de 30-39 años (28.8%). El grupo de edad menos frecuente fue el de 60-70 años (1.1%). De las encuestas realizadas un 48% fue contestado por personal de enfermería, un 33% por personal médico y 19% por otro personal de salud. Del personal médico el 68% son especialistas, un 27% tiene maestría. Las enfermeras en servicio social están aún en formación, dentro del personal de salud tomado como otros el 65% menciono tener licenciatura.

La mayoría del personal médico entrevistado ha laborado en la institución de uno a 5 años (67%) a diferencia del personal de enfermería que ha laborado por 20 a 25 años 17.6%. El grupo médico que ha laborado por más de 6 años es de 26.6% y menos de 5 años 6.3%. El personal de enfermería que ha laborado por 1 a 5 años es de 11.9%, el que ha laborado por más de 25 años es 17.1% y el que ha laborado por menos de 5 años es de 2.3%. Del 100% de los encuestados, un 98.4% considero importante realizar la higiene de manos con alcohol gel y un 82.5% refirió prefería el alcohol gel para realizar higiene de manos. Sin embargo al preguntar sobre la efectividad de la solución alcoholada para realizar la higiene de manos solo el 6.8% lo considera más efectivo. (Gráfica 1)



Gráfica 1. Uso de solución alcoholada (PBA) en Higiene de Manos

Referente a que la causa de no usar solución alcoholada se debe al personal de salud es posible ya que nuestra variable de medición incluía que el personal considerara al alcohol gel como efectivo, lo prefiriera y considerara importante su uso para realizar HM y solo 18.5% de los encuestados consideraron todas estas posibilidades. La calidad de los productos para higiene de manos en el 59.5% de los encuestados refieren que el agua y jabón causa mayor resequead de la piel, solo el 39.7% opina que PBA ocasiona mayor resequead ver tabla 1

Tabla 1. El alcohol gel produce resequead de la piel

Resequead	Encuestados	Frecuencia (%)
PBA	145	39.7
Agua y jabón	217	59.5
Ambas	1	0.3
No contestó	2	0.5
Total	365	100.0

El conocimiento por parte del personal de salud sobre el uso de PBA referente a su efectividad, las ventajas del producto y cuando debe estar indicado, fue total en un 2.7%, parcial en un 42.7%, pobre en un 48.8% y nulo en el 5.8% de los encuestados.

De acuerdo a la percepción del personal de salud sobre el PBA considera que ocasiona más resequead que el jabón en un 40%, también menciona que la temperatura de la solución influye en llevar a cabo la HM en un 30.4%, siendo importante mencionar que solo 47.7% refirieron debe usarse PBA cuando las manos estén libres de cualquier fluido o material orgánico (esporas), un 4.7% considero erróneamente que puede usarse PBA cuando las manos estén visiblemente sucias y 44.4% consideraron erróneamente que se podía usar indistintamente en ambas situaciones. El personal de salud refiere que las ventajas de usar PBA en la realización de higiene de manos es su empleo implica un menor tiempo al realizar HM según 57.5% de los entrevistados, el 21.6% refiere la disponibilidad de PBA en el sitio de atención del paciente, un 9.6% de los entrevistados consideran que el PBA es más efectivo contra microorganismos, es importante mencionar que un 0.3% considera que la ventaja es de la disponibilidad y la rapidez.

Los encuestados refirieron que el Comité de infecciones promueve de manera correcta la medida de higiene de manos en un 86.8%, un 12.9% opina que no lo hace adecuadamente. De la promoción sobre higiene de manos refirieron que las estrategias son buenas en un 71.5%, regulares en 23.6% y mala en 4.7%. De los 5 momentos de Higiene de manos; Solo un 27.9% del personal encuestado conoce correctamente la realización de higiene de manos durante los 5 momentos y 17.3% desconocen totalmente como se debe llevar a cabo la HM en los 5 momentos. En el personal médico el conocimiento completo de realización de higiene de manos durante los 5 momentos fue de 20.8% y de las enfermeras fue de 38.6% y los que desconocen completamente los 5 momentos fueron personal médico 19.2% vs personal de enfermería 9.1% respectivamente.

Discusión

La gran mayoría de encuestados (98%), considera importante la realización de aseo de manos con alcohol gel. El estudio de Coelho y cols., reporta una predilección por el uso de alcohol gel de 32%, Sánchez- Payá refiere un 49%, en comparación a nuestro estudio que reporta predilección por alcohol gel en un 82.5%, y para lavado de manos con agua y jabón un 17.5%. Otros estudios reportan cifras de 49% de preferencia para alcohol gel. En la investigación la hipótesis alterna planteada se descarta ya que aunque la mayoría del personal considero importante el uso de solución alcoholada y refirió preferir el usar esta para realizar higiene de manos sin embargo consideraban que no era efectiva ya que solo 6.8% considero que la solución alcoholada era efectiva para realizar higiene de manos. Por ello se consideró en esta investigación que una de las causas de no usar solución alcoholada se debía probablemente a la percepción que tiene el personal de salud sobre la eficacia de la solución alcoholada.

La propuesta de que el grado de conocimiento del personal de salud de la institución sobre cuando realizar higiene de manos durante los 5 momentos recomendados por la Organización Mundial de la Salud fue ligeramente menor a lo esperado 28% vs 39% por lo cual aunque se menciona que el Comité de Infecciones promueve de manera correcta la medida de higiene de manos esto no se ve reflejado en el resultado anterior. En el estudio de Zamudio y cols, se mencionan que de una pequeña muestra de 21 trabajadores de la salud el 71% conocía y realizaba la higiene de manos en los 5 momentos, situación contraria en nuestra institución sin embargo en el estudio mencionado la población para esta conclusión fue muy escasa.

Basados en el estudio de Hernández y cols, mencionaba que 25% prefería realizar higiene de manos con solución alcoholada a diferencia de este estudio donde se encontró que el personal de salud prefiere el uso de solución alcoholada en 83%, cabe mencionar que el estudio previo se refería también a población de la misma institución por lo cual en este punto se pensaría ha habido un cambio positivo de parte del personal de salud para aceptar el uso de solución alcoholada al realizar higiene de manos. En el estudio de Sánchez-Payá se menciona una preferencia de uso de solución alcoholada por los trabajadores de salud de 49%, siendo menor a lo encontrado en nuestro estudio (83%).

Las causas que consideramos con este estudio podrían influir en que no se utilice la solución alcoholada en la higiene de manos serían que el personal no lo considera efectivo, se tiene desconocimiento de cuándo debe usarse, algunos estudios reportan como causa de incumplimiento de la adecuada higiene de manos con un 9,6% la resequead que producen estos productos en el estudio fue mayor ya que 40% refirió que el alcohol gel causaba resequead. Otro hallazgo de esta investigación fue que el personal considera la temperatura del PBA 30.4% como un factor que puede influir la realización de la higiene de manos. Otro punto importante que consideramos debe ser tomado como factor para no realizar higiene de manos con PBA es que el personal mostro desconocimiento cuando debe de usarse hasta en un 50%.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Autónoma de Guerrero, nuestra universidad, por darnos la oportunidad de conocer nuevas fronteras en pro de la educación. A la Dra. Mercedes Macías Parra, por aceptar nuestra petición de formar parte de su equipo de investigación y a la Dra. Hilda Guadalupe Hernández Orozco, por su gran apoyo incondicional para llevar a cabo este proyecto, por su paciencia y horas de trabajo extra.

Referencias

- OMS. Guía de la OMS sobre la higiene de manos en la atención de la salud. [Internet].** (2009). WHO press [Consultado 5/07/2014]. Disponible en: http://www.med.unlp.edu.ar/archivos/noticias/guia_lavado_de_manos.pdf
- Sánchez-Paya J, Galicia-García M, García Rodríguez R, García-Gonzalez C, Fuster-Perez M, y cols.** (2007). Grado de cumplimiento y determinantes de las recomendaciones sobre la higiene de manos. *Enf Infecc Microbiol Clin*; 25(6):369-375
- OMS. Manual técnico de referencia para la higiene de manos. [Internet].** (2010). WHO press. [Consultado 4/07/2014]. Disponible en: http://www.who.int/patientsafety/information_centre/Spanish_HH_Guidelines.pdf
- Zamudio-Lugo U, Meza Chávez A, Martínez Sánchez Y, Miranda Nogales MG, Espinoza Vidal JG.** Estudio Multimodal de higiene de manos en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Bol Med Hosp Infant Mex*; 69 (5): 384-390.
- Anaya F, Ortiz L, Hernández Z, García H, Jiménez B, Ángeles.** (2007). Prevalencia del lavado de manos y factores asociados al incumplimiento. *Rev Enf Inst Mex Seguro Soc*; 15 (3): 141-146.



Identificación de microorganismos de interés oral mediante pruebas bioquímicas y moleculares.

Efraín Joksán Téllez Serrano (Becario programa Delfín)

neutron_1994_1@hotmail.com

Unidad Académica de Odontología. Universidad Autónoma de Guerrero

Angelo Aramis Pedrote Alvarez (Becario programa Delfin)

angelo_aramis@hotmail.com

Unidad Académica de Odontología. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Jorge Antonio Yáñez Santos (Asesor)

j_antonio_yanez@yahoo.com

Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Resumen

Es claro que las enfermedades bucales, tomando en mayor importancia la caries dental, son un problema que afecta a la gran mayoría de las personas, por lo cual es necesario el conocimiento del agente biológico causal de la misma. Para esta investigación se elaboraron diferentes medios biológicos y moleculares, los cuales los dejaríamos reposar y, posteriormente, se tomarían muestras de saliva de diferentes personas; las cuales nos sirvieron a lo largo de la investigación. De la saliva recolectada, se tomaron muestras y se procedió a hacer siembra en los distintos medios biológicos y moleculares, para así poder aislar diferentes tipos de bacterias (estreptococos, estafilococos y bacilos). Ulteriormente se observaron bajo el microscopio las bacterias aisladas y se procedió a una segunda siembra, en medios ricos en carbohidratos, azúcares y proteínas, para así, observar su reacción en los diferentes medios.

Al monitorear las reacciones de cada bacteria en diferentes elementos, se observó y demostró que el “Streptococcus mutans” es el principal causante de la caries, y que existen otras bacterias oportunistas que al igual que el S. mutans, como lo son, el Staphylococcus aureus o el Lactobacillus acidophilus, los cuales son elementos propiciadores de la caries. Y en sí, la caries por ser una enfermedad multifactorial, la vuelve muy difícil de erradicar.

Palabras clave: Streptococcus mutans, caries, identificación, microorganismos.

Introducción

Las enfermedades bucales, tales como caries dental y periodontitis, son las más comunes entre las enfermedades crónicas, además de ser un importante problema de salud pública por su alta prevalencia, impacto en los individuos, en la sociedad, y el costo de sus tratamientos

La caries dental se define como una enfermedad crónica, microbiológicamente inducida y multifactorial que afecta a la mayoría de la población mundial. Es producida por microbiota cariogénica (acidogénica) presentes en la placa bacteriana dental, las cuales por sus factores de virulencia, se adhieren a la superficie del diente produciendo ácidos, los que provocan la pérdida de minerales de su estructura, siendo Streptococcus mutans (S.mutans), considerado uno de los principales agentes Etiológicos.

La cavidad oral es un área muy compleja, en la cual existe un ecosistema muy complejo, mismo que está compuesto por una gran variedad de especies de microorganismos, los cuales se encuentran de forma natural en la flora bucal. Estos microorganismos colonizan la boca aún antes de que los dientes erupcionen, aunque los recién nacidos son esencialmente libres de microorganismos. Ya que estos erupcionan, dichos microorganismos pueden adherirse más fácilmente a la a las superficies expuestas de los dientes del infante, gracias a las irregulares formas características de los dientes, los cuales son responsables de infinidad de enfermedades. Y entre las más significativas se encuentra la caries dental.

Actualmente muchas personas padecen caries dental, lo que la pone entre las enfermedades más abundantes a nivel mundial, si no es que la más abundante y difícil de eliminar hasta el momento.

Existen en la actualidad muchas teorías en las cuales se postulan diferentes formas para poder erradicar a la caries dental, aunado a esto los diferentes productos que dicen prevenir dicha enfermedad. Sabemos que en ocasiones, la prevención no evita por completo la formación de esta enfermedad. Para lo cual es necesario, primeramente, localizar cuáles elementos bacteriológicos propician e inician esta enfermedad, mediante revisiones teóricas y posteriormente realizando diferentes pruebas dentro del laboratorio con algunos pacientes, para lo cual se tomaron diferentes muestra de saliva, mismas que nos servirían para llevar a cabo nuestra investigación.

Materiales y métodos

Primeramente se hizo selección y preparación de diferentes tipos de agares con ayuda de nuestro investigador, el cual nos sugirió utilizar estos tipos de agares para identificar microorganismos específicos, tales como: Mitis salivarius, Manitol y sal, Trypticase soya (TSA) y MacConkey, los cuales fueron disueltos en agua destilada dentro de un matraz, siguiendo los pasos descritos en el instructivo de las diluciones, utilizando una balanza granataria para medir los gramos de los agares y una pipeta graduada para medir los mililitros de agua destilada y nuestra preparación fuese lo más exacta posible; a continuación nos dispusimos a colocar uno pequeño artefactos en el interior de los matraces llamado barra de agitación o “mosca” y unos tapones hechos de algodón envuelto en una gasa y con un sobrero de papel estraza, para así poder realizar una dilución con ayuda de un agitador magnético, el cual agitaba y calentaba al mismo tiempo nuestra dilución .

Después de haber realizado correctamente las diluciones y extraer la barra agitadora, llevamos los matraces a la autoclave a 121°C por un periodo de tiempo de 20 min donde dimos la correcta asepsia a nuestras diluciones; después del tiempo de esterilización vaciamos en cantidades iguales los agares en cajas de Petri estériles junto a mecheros de bunsen, creando un área de esterilidad; después de vaciar los agares en las cajas de Petri dejamos estas boca abajo a temperatura ambiente hasta que gelatinizaran y poderlas llevar a hacer una prueba de esterilidad en la incubadora a 37 °C por 24 y reafirmar que no fuesen contaminadas, y posteriormente realizar las siembras correspondientes con la técnica de estría cruzada tomando como referencia las muestras de saliva de los pacientes, en un área estéril gracias al mechero de Bunsen y tomando las medidas de protección adecuadas.

Posteriormente se colocaron las muestras en la incubadora para que los agentes microbianos crecieran y así poder hacer una cuantificación selectiva de las colonias que crecieren en nuestras cajas de Petri.

Una vez que las dejamos reposar en la incubadora por 24 horas (Fotografía 1.0), se procedió a observar bajo el microscopio la caja de Petri para apreciar mejor la forma de las colonias (Fotografía 1.1).

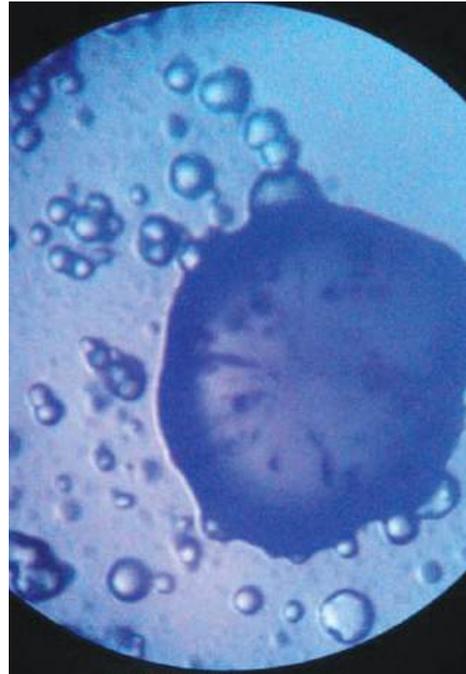


Fotografía 1.0: caja de Petri mostrando siembra por técnica de estría cruzada en la cual se aprecia el crecimiento de colonias de

Nos apoyamos además con la Tinción de Gram, para corroborar el tipo de microorganismo con el que estamos trabajando y así saber si se encuentra entre el grupo de los Gram negativos o Gram positivos, para la cual colocamos una porción de la muestra con una gota de agua destilada la cual fijamos al calor para después llevarlo a una gradilla y colocar los reactivos correspondientes que en orden y tiempo fueron como se describe a continuación: El primer reactivo a colocar fue el cristal violeta por 1 min cubriendo toda la muestra y después enjuagar con agua destilada; el segundo reactivo fue lugol por 1 minuto y después enjuagar con agua destilada; el tercer reactivo fue alcohol acetona por 5 segundos, enseguida enjuagamos con agua destilada, y por último fue la safranina por 1 min, para posteriormente enjuagar, dejar secar y observar la muestra bajo el microscopio(Fotografía 1.2).

Para nuestra segunda ronda de pruebas, nos dedicamos a corroborar nuestros resultados mediante diferentes diluciones, con la diferencia de que en esta ocasión utilizaríamos pruebas bioquímicas para bacterias Gram -, las cuales nos sirven como medio de apoyo para la identificación y selección de los microorganismos las cuales describiremos a continuación:

Se prepararon las diluciones respectivas de los agares MIO (Movilidad Indol Ornitina), LIA (Lisina Iron Agar), TSI (Triple Sugar Iron) y Fenilalanina en agua destilada dentro de un matraz siguiendo los pasos descritos en el instructivo de las diluciones utilizando una balanza granataria para medir los gramos de los agares y una pipeta graduada para medir los mililitros de agua destilada y nuestra preparación fuese lo más exacta posible(Tabla 1); al igual que en la primera etapa cuando se hicieron las primeras preparaciones de agares, colocamos una barra agitadora en los matraces, a continuación nos dispusimos a colocar unos tapones hechos de algodón envuelto en una gasa y con un sobrero de papel estraza para así poder realizar una dilución con ayuda del agitador magnético.



Fotografía 1.1: Colonia de *S. mutans* sembrado en agar mitis salivarius observado bajo el microscopio.



Fotografía 1.2: muestra después de realizar tinción de Gram, se aprecian colonias de *S. mutans* las cuales identificamos como Gram positivas.

Tabla 1: Cantidad de agar en gramos por mililitros de agua destilada, utilizados para elaborar medios de cultivo.

Agar	MIO	LIA	TSI	Fenilalanina
Gramos	3.10	3.30	5.94	2.3
Agua destilada ml.	100	100	100	100

Después de haber realizado correctamente las diluciones, vaciamos los agares en un igual número de tubos de ensayo cada uno, colocándoles un tapón de caucho y llevándoles al autoclave donde a 121°C por 20 min fueron esterilizados para después retirarlos, después se las dejó reposar en una posición inclinada para que las muestras adquirieran una forma llamada “pico de flauta”, forma que necesitan tener las muestras para la realización de nuestra siembra. Las dejamos reposar hasta gelatinizar y posteriormente se procede a hacer prueba de esterilidad por en la incubadora. Al revisar las muestras y corroborar que no hubo contaminación se procede a hacer una segunda siembra microbiana con un haza recta con la técnica correcta en un área estéril con ayuda del mechero de Bunsen, tomando como muestra las colonias recolectadas de la primera siembra y así corroborar que no nos equivocamos al seleccionar los diferentes tipos de colonias.

Dichas pruebas se dejaron reposar de igual manera por 24 horas en la incubadora, posteriormente se analizan los tubos de ensayo para observar si existe crecimiento en las muestras.

Al no haberse registrado crecimientos en las pruebas con agares LIA, MIO, TSI y Fenilalanina, apreciamos que hubo concordancias con los resultados esperados.

Una de las pruebas más rápidas pero no por eso menos importante, fue la prueba de catalasa, en la cual a una pequeña muestra de las colonias de *S. mutans* se le colocan unas gotas de H₂O₂ (agua oxigenada) para observar si se producían burbujas

Resultados

Una vez realizada una revisión teórica sobre el tema, se localizaron cuáles son los elementos más altamente cariogénicos dentro de la flora bucal se observó el comportamiento de varios elementos bacterianos y se demostró que el “*Streptococcus mutans*” es el principal causante de la caries dental, y que existen otras bacterias oportunistas que al igual que el *S. mutans*, como lo son, el *Staphylococcus aureus* o el *Lactobacillus acidophilus*.

La lectura de las colonias que crecieron en el agar mitis salivarius y los resultados que arrojaron las pruebas bioquímicas con agares LIA, MIO, TSI y Fenilalanina, en las cuales se observó que no hubo ningún tipo de crecimiento, ya que estuvimos trabajando con elementos Gram +, por lo cual al sembrarlo en un medio para identificar microorganismos Gram –, se corroboró que efectivamente estuvimos trabajando con *S. mutans* y junto con los resultados de la tinción de Gram, la prueba de catalasa, las pruebas bioquímicas, la cátedra de nuestro investigador a cargo y la lectura de algunos artículos podemos describir a *S. mutans* como una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal

humana, formando parte de la placa bacteriana o biofilm dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental. Es acidófilo porque vive en medios con pH bajo, acidogénico por metabolizar los azúcares a ácidos y acidúrico por sintetizar ácidos a pesar de encontrarse en un medio de tales condiciones. Metaboliza la sacarosa para producir polisacáridos extracelulares.

Discusión y conclusiones

En las últimas décadas se ha demostrado que más del 90% de la población mexicana, se encuentra afectada por caries dental. Y ya que esta es una patología multifactorial, influyen en ella diversas situaciones, tales como; una alimentación con altos niveles en carbohidratos y sacarosa, la presencia de iones de calcio para la adherencia de la biopelícula a la superficie dental, el pH en boca, estados carenciales de la persona, anomalías dentarias, distintas enfermedades sistémicas y síndromes (Sx Sjögren), raza, edad, etc. El poder describir al *S. mutans* y así abrir un paréntesis en la búsqueda de diferentes maneras de inhibir su participación en la formación de la caries, fue desde un principio nuestro objetivo principal; sabemos que este microorganismo depende de diversos factores para poder producir una caries. Y a través de ello existen diversas maneras de contrarrestar estos factores, aunque muchos de estos nuevos procedimientos se encuentren aún en fase de estudio, como lo puede ser el uso de enjuagues bucales antibacterianos, que aunque su uso puede ser efectivo aun afecta por mucho la flora bucal, lo cual causa otros efectos secundarios, lo mismo decimos de vacunas y enjuagues que funcionen como búfer en el pH oral. Por todo esto y más, tomamos esto como un inicio de un futuro de investigaciones para desarrollar medidas para la preservación de tejido sano en los órganos dentarios sin perjudicar los tejidos adyacentes a este, ya que estos elementos son también parte importante en la función de la boca.

Otro conocimiento que obtuvimos de *S. mutans* es, que por sí solo no es incapaz de producir la caries, es necesario el apoyo de muchos factores (por eso es que nos referimos a la caries como una enfermedad multifactorial).

Agradecimientos.

A la coordinadora de becas de la Unidad Académica de Odontología de la U.A.Gro, CD. Alicia no hubiese sido posible sin el apoyo incondicional.

A la CD. Rubí Soto por su apoyo moral y animarnos a realizar nuestra investigación,

A la Lic. Lilia Tapia por explicarnos y mantenernos al tanto de todas las actividades del programa Delfín,

Al Lic. Daniel Ecatzin, por su apoyo económico cuando nos hizo falta cuando se nos estaban acabando nuestros recursos.

Al Dr. Jorge Antonio Yáñez, por habernos aceptado en su investigación y por recibirnos con gran amabilidad y cordialidad en la facultad, por compartir su conocimiento y tiempo con nosotros, por asesorarnos paso por paso en la investigación y por compartir con toda amabilidad todo el conocimiento que le fue posible.

A la CD. Karen Guadarrama por su asistencia y apoyo en todo el desarrollo de la investigación.

Al Ingeniero Mauro, ya que gracias él tuvimos un techo durante el mes y medio de nuestra estancia, por ayudarnos en los primeros días a instalarnos y ser de apoyo en momentos difíciles.

A mis padres, por su amor y esfuerzo en la vida, gracias a ellos soy quien soy hoy en día.

A nuestras madres Magali y Patricia, por su constante entrega, comprensión y apoyo en todas las decisiones que hemos tomado, sin sus palabras de ánimo en los momentos difíciles se nos habría hecho difícil llegar a esta instancia y estar tan cerca de realizar nuestros sueños.

Al MC. Guillermo Contretas Palma y al CD. Gustavo Bermúdez, por dedicarme parte de su valioso tiempo al asesorarme, corregirme y orientarme cuando lo requerí.

A nuestros compañeros de Odontología de la U.A.Gro., que nos apoyaron a lo largo de todo el papeleo, y apoyarnos mientras estábamos fuera.

A nuestros compañeros de la facultad de investigación, por compartir su tiempo y conocimientos con nosotros y hacer que nuestra estancia en la B.U.A.P. fuese más amena.

A Coraima, por su paciencia y amor incondicional, por apoyarme en cada momento.

Al Dr. Javier Saldaña Almazán por apoyar este tipo de programas de investigación, por el apoyo económico por medio de becas a los alumnos que participaron en el programa Delfín, ya que sin él no hubiésemos realizado nuestro verano de investigación.

Referencias Bibliográficas

Microbiological reviews, June 1980, p. 331-384 Vol. 44, No. 2 *Biology, Immunology, and cariogenicity of streptococcus mutans*. Shigeyuki Hamadat And Hutton D. Slade Department of Oral Biology, School of Dentistry, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado, EEUU 80262

Microbiología estomatológica. fundamentos y guía práctica. 2a edición (2009). By Marta Negroni, Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Ar. 656p.

Essential microbiology for dentistry 4th Edition (2012) By Lakshman Samaranayake Editorial Elsevier, 392 p.

Oral microbiology and immunology, Richard J. Lamont Amer Society for Microbiology, Jan 1, 2006 - 458 pages.

Anderson MH, Molvar MP, Powel LV. "Treating Dental Caries as an Infectious Disease." *Operative Dentistry*. 1991; 16: 21-28.

Bernimuolin, JP. "Recent concepts in plaque formation." *J Clin Periodont* 2003; 30:7-9.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Interacción entre el transportador Glutamato/Aspartato GLAST y la proteína de andamiaje Ezrina en Células de Müller

Alejandro Godoy Pacheco (Becario Programa Delfín)

gpgoya_94@live.com.mx

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Arturo Ortega Soto (Asesor)

arortega@cinvestav.mx

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional

Resumen

Las células de Müller son un tipo de células de glía radial de la retina. En el presente estudio se determinó la interacción de GLAST con Ezrina en cultivo de células de Müller (MIO-M1) estimuladas con el agonist glutamatérgico N-metil-D-aspartato (NMDA) a diferentes tiempos (0, 5, 15, 30, 60, 120 min). Para esto fue necesario privar las células con Solución de Ensayo por 1 hora, estimularlas con NMDA a diferentes tiempos y cosecharlas, para después ser centrifugadas y llevar a cabo la lisis de membrana. Seguido se cuantificaron las proteínas y se realizó un aimnoprecipitación con anticuerpos anti-GLAST para posteriormente llevar a cabo Inmunodetección en fase sólida con anticuerpos anti-ezrina. Los resultados dieron a conocer que la interacción entre GLAST y Ezrina empieza a los 5 min y se mantiene hasta las 120 min, pero con una interacción máxima a los 60 min.

Palabras clave: GLAST, Ezrina, Células de Müller

Introducción

Las células de Müller (glía radial), es la glía predominante de la retina de los vertebrados. Forman estructuras de soporte arquitectónicas que se extienden radialmente a través del espesor de la retina, además funcionan en relación simbiótica con las neuronas (Reichenbach y Robinson., 1995). Entre sus funciones destaca el proteger a las neuronas de excitotoxicidad a causa de concentraciones exacerbadas del neurotransmisor glutamato, utilizando mecanismos de captura para reciclar este neurotransmisor. Ezrina es una proteína de membrana de la familia MRE (Moesin, Radixin y Ezrin) y juega un papel importante en la vía de señalización para el reciclaje de glutamato (Wu et al., 2014). El transportador de Glutamato/Aspartato GLAST se expresa predominantemente en las células gliales y captura más del 80% de glutamato del espacio extracelular (Karki *et al.*, 2014). Existe un cotransporte de 3 Na^+ y 1 H^+ . Este acople permite un transporte de glutamato en las células en contra de un gradiente de concentración (Wang et al., 2013). Para el transporte de glutamato también interviene la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). Se sabe que los niveles de GFAP aumentan la actividad de GLAST cuando existe un exceso de glutamato (Liedtke *et al.*, 1996). Estudios anteriores realizados por Sullivan *et al.*, (2007) demuestran que GFAP

juega un rol en el tráfico de GLAST hacia la membrana plasmática y los retienen en esta para que exista un buen transporte de glutamato.

Metodología

Para la realización de este experimento se trabajó con multipozos de 6 (mp6) con células de Müller de la línea celular MIO-M1. Estas células fueron suprimidas 1 hora con solución de ensayo, con la finalidad de equilibrar las células, retirando el SFB (suero fetal bovino) que es un activador de vías de señalización.

Estímulo con NMDA: Posteriormente estas células fueron estimuladas con NMDA por un tiempo determinado.

Tabla 1: Características y tiempo de estimulación realizadas a células de Müller.

Estímulo	Multipozos	Tiempo	Estímulo (NMDA + Gly)
	1	N/E	00:00
2	5 min	00:05	
3	15min	00:15	
4	30 min	00:30	
5	60 min	01:00	
6	120 min	02:00	

Después de que pasaran los tiempos requeridos se retiró el estímulo y se lavó con 800 µL solución de ensayo.

Cosechado de las células: A continuación se adicionó 1 mL PBS con inhibidores + PMSF por cada mp6, retirando primero los 800 µL de la solución de ensayo. Acto seguido, las células fueron raspadas con un cosechador, para después colocarlas en un tubo de 1.5 mL. Después de retirar todas las células, los tubos fueron centrifugados a 13,000 rpm por 7 minutos a 4 °C. Al término de la centrifugación se desechó el sobrenadante, teniendo cuidado de no llevarse la pastilla (proteínas de interés).

Lisis membranar: Después se llevó a cabo la lisis de membranas, para tal efecto, se colocaron 70 µL de solución de lisis en la pastilla y se mantuvo en agitación constante por 90 minutos en un cuarto frío. Al mismo tiempo en el que se realizó el lisado de las células, se realizó un acople entre GLAST y perlas de agarosa colocando 3 µL de cada uno en 100 µL de solución de inmunoprecipitación, dejando esta solución en movimiento constante por 4 horas a 4°C.

Cuantificación de proteínas: Después de los 90 min de la lisis, se procedió a cuantificar las proteínas por el método de Bradford empleando una dilución 1:60, colocando 2 µL de las muestras y 118µL de agua. Colocando la placa en donde se colocaron las muestras en un espectrofotómetro para leer las absorbancias de cada una de estas, y poder realizar los cálculos para así realizar la electroforesis

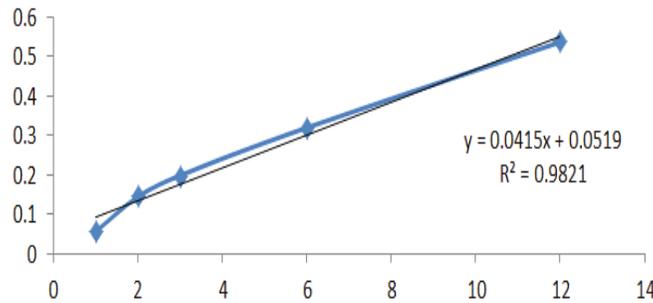


Figura 1. Curva de concentración de proteínas

Se procedió a realizar los cálculos para 1 mg de proteína por cada condición.

Tabla 2. Absorbancias y promedio de cada una arrojados por el espectrofotómetro

Proteína	Absorbancia		X
1	0.058	0.055	0.0565
2	0.151	0.138	0.1445
3	0.194	0.203	0.1985
6	0.298	0.341	0.3195
12	0.555	0.518	0.5365

Acople GLAST con las proteínas: Control de inmunoprecipitación: Solución de acople + proteína sin anticuerpo, Muestras con estímulos: 1 mg de proteína se acoplo en conjunto con las perlas de agarosa más GLAST por 12 h. Pasado el período de incubación las muestras fueron centrifugadas por 10 min a 13,000 rpm a 4°C. El sobrenadante fue decantado. A la pastilla restante, se le agregó 80 µL de solución RIPA, la muestra fue centrifugada de nuevo por 5 min a 13,000 rpm a 4°C. El sobrenadante fue decantado por segunda vez. Finalmente las muestras se prepararon para ser desnaturalizadas.

Desnaturalización: A las muestras se les colocaron 30 µL de solución de muestra 3X y después fueron calentadas en el termoblot por 12 min. La reacción se detuvo al colocar las muestras en hielo.

Se polimerizaron geles de 8% de 1.5 mm con 10 pozos, se cargaron 20 µL de todas las muestras. El gel fue puesto en la cámara con los siguientes parámetros: 80mV por 120 min.

Transferencia: Después de la electroforesis, las proteínas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa. La fuente de poder tuvo los siguientes parámetros: 180mA por 120 min.

Tinción con rojo de ponceau: Después de la transferencia de proteínas, la membrana se tiñó con rojo de Ponceau y se marcó con su correspondiente marcador de peso molecular, para posteriormente lavar la membrana y tomar la foto (corroborar que la carga de proteína sea pareja). La foto fue tomada en el MicroChemi.

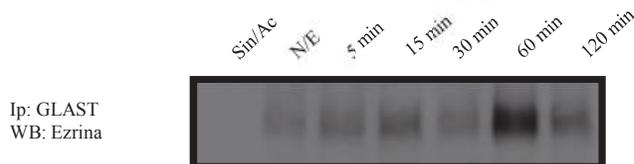
Seguido de esto se realizó el bloqueo de la membrana. Las muestras después de ser bloqueadas fueron lavadas 3 veces por 6 min con TBS-Tween 0.1%. La membrana fue incubada con 1 mL de Ac. Primario overnight a 4°C. Pasado el período de incubación se dieron 3 lavados con TBS-Tween 0.01% por 6 min. Se colocó 1 mL del anticuerpo secundario (anti-anticuerpo) correspondiente al anticuerpo primario y se dejó incubar por 120 min a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación se procedió a dar 3 lavados por 6 min con TBS-Tween 0.1%.

El revelado de membrana se realizó con el MicroChemi colocando anteriormente a las membranas el reactivo de luminiscencia Amersham como sustrato de la peroxidasa de rábano. Esta enzima cataliza la oxidación de luminol en presencia de peróxido de hidrogeno emitiendo luz. Se colocaron 100µL del reactivo de luminol y 100µL del reactivo de peroxidasa, el cual cubrió toda la superficie de la membrana.

Resultados

La interacción entre GLAST y Ezrina es mostrado es la siguiente imagen, en la cual se muestra la interacción sin anticuerpo (Ezrina), no estimulado (N/E), la interacción a los 5, 15, 30, 60 y 120 minutos. Lo anterior denota que la interacción entre GLAST y Ezrina empieza a los 5 min y se mantiene hasta los 120 min, pero su pico máximo de expresión es a los 60 min. En la figura 1 se muestra la expresión de la proteína a diferentes tiempos.

Figura 1. Interacción entre GLAST y Ezrina dependiendo del tiempo



Discusión y conclusión

Los resultados obtenidos dan a conocer la existencia de una vía de señalización que es activada por los receptores ionotrópicos de glutamato subtipo NMDA que resulta en la interacción de la proteína de andamiaje Ezrina con el transportador GLAST en células de Müller. La captura de glutamato es necesaria para mantener las concentraciones adecuadas de este neurotransmisor en la hendidura sináptica de tal suerte que por una parte, se eviten fenómenos de neurotoxicidad pero por otra se asegure la continuidad de la transmisión glutamatérgica, vital para funciones superiores como la visión, el aprendizaje, etc. En este proyecto nos enfocamos en evaluar la interacción del transportador GLAST con Ezrina, que suponemos es necesaria para poder regular la cantidad de transportadores de glutamato en la membrana plasmática.

Agradecimientos

Quiero agradecer al Programa Delfin por la gran oportunidad de participar en el XIX Verano de Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico 2014. Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN por abrirme las puertas a nuevas experiencias y conocimientos, al Dr. Arturo Ortega Soto quien fue mi asesor-investigador y me recibió en su laboratorio del cual aprendí muchas cosas durante mi estancia, me brindó su amistad y me abrió la mente a nuevos horizontes. Igualmente agradezco a los auxiliares, M.C. Luisa Clara Hernández Kelly y el IBQ Luis Ángel Cid que pertenecen al laboratorio 31 del Departamento de Toxicología quienes me brindaron gran apoyo dentro y fuera del laboratorio.

Referencias

- Reichenbach A, Robinson SR.** (1995). The involvement of Müller cells in the outer retina. In: Djamgoz MBA, Archer SN, Vallergha S, editors. *Neurobiology and clinical aspects of the outer retina*. London: Chapman & Hall. P.395-416.
- Sullivan, S.M., Lee, A., Bjorkman, S.T., Miller, S.M., Sullivan, R.K., Poronnik, P., Colditz, P.B., Pow, D.V.,** (2007). Cytoskeletal anchoring of GLAST determines susceptibility to brain damage: an identified role for GFAP. *J. Biol. Chem.* 282, 29414–29423.
- Karki, P., Smith, K., Johnson, J., Aschner, M., Lee, E.,** (2014). Role of transcription factor yin yang 1 in manganese-induced reduction of astrocytic glutamate transporters: Putative mechanism for manganese-induced neurotoxicity. *Neurochem. Int.* doi:10.1016/j.neuint.2014.08.002
- Liedtke, W., Edelmann, W., Bieri, P.L., Chiu, F.C., Cowan, N.J., Kucherlapati, R., Raine, C.S.,** (1996). GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron* 17, 607–615.
- Wang, L., Deng, Q.-Q., Wu, X.-H., Yu, J., Yang, X.-L., Zhong, Y.-M.,** (2013). Upregulation of glutamate-aspartate transporter by glial cell line-derived neurotrophic factor ameliorates cell apoptosis in neural retina in streptozotocin-induced diabetic rats. *CNS Neurosci. Ther.* 19, 945–953. doi:10.1111/cns.12150
- Wu, B., Xie, J., Du, Z., Wu, J., Zhang, P., Xu, L., Li, E.,** (2014). PPI Network Analysis of mRNA Expression Profile of Ezrin Knockdown in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *BioMed Res. Int.* 2014, 651954. doi:10.1155/2014/651954



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Lactancia materna exitosa

Anadelí García Jiménez (Becario Programa Delfín)

lalysnursing@gmail.com

Unidad Académica de Enfermería No. 1. Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Narce Dalia Reyes Pérez (Asesor)

Escuela Superior de Enfermería Mochis

Introducción

Desde hace mucho tiempo la lactancia materna ha permitido la supervivencia de la especie en durísimas circunstancias, aunque desde las civilizaciones más antiguas las clases altas utilizaron nodrizas para criar a sus hijos, hoy en día toda una serie de creencias populares y erróneas teorías, además de una serie de factores socioeconómicos, religiosos, modas y estilos de vida contribuyeron al rechazo de la lactancia materna. En el siglo XIX se inicia el mayor experimento nutricional a gran escala sin control previo. La alimentación del lactante con sucedáneos de leche materna elaborados industrialmente a partir de leche de vaca, perdiéndose así la cultura de la lactancia natural transmitidas de madres a hijos. En los países menos desarrollados produjo cientos de miles de muertes. Pero en el siglo XX todos los tratados médicos afirman la superioridad de la leche de mujer sobre cualquier otro animal. En los últimos años el interés en la lactancia ha crecido. Parte del motivo es la controversia tan publicitada de reemplazar la leche materna por biberones y la promoción activa de los sustitutos de la leche materna por parte de compañías multinacionales. El arte femenino de amamantar en los últimos años ha sido redescubierto en Europa y en menor proporción en América del Norte. Desgraciadamente, el uso de los biberones continúa en muchos países industrializados del sur. Las consecuencias más serias de este cambio del pecho al biberón se observan entre las familias pobres de África, Asia y América Latina. Así mismo se han publicado extensos estudios que comparan la composición y beneficios relativos de la leche humana y de sus sustitutos, la mayor parte de la investigación reciente apoya las innumerables ventajas de la lactancia sobre otros métodos de alimentación infantil. Por ello este estudio busca cumplir el objetivo el cual propone implementar actividades que favorezcan la lactancia materna a partir del primer encuentro con un vínculo armonioso de la madre y el hijo hasta los primeros seis meses de vida del recién nacido al 100%.

Metodología

A su vez, el presente se desarrolla bajo la metodología basada en las rutas de calidad, lo cual es un procedimiento estándar de solución de problemas detectados en el contexto institucional que permite emitir propuestas de trabajo colaborativo, propiciando la formalidad y gestión de recursos que se requieren para la operatividad del mismo.

Jerarquización de problemas: Evalúa cada uno de los problemas planteados en base a los factores de Magnitud, Trascendencia, Vulnerabilidad y Factibilidad (1: No aceptable, 2: Regular, 3: Aceptable), de acuerdo al puntaje, se seleccionará el problema con el total más alto y que además sea factible de resolver.

Tabla 1. Problemas relacionados a la magnitud, trascendencia, vulnerabilidad y factibilidad

Problemas seleccionados	Magnitud	Trascendencia	Vulnerabilidad	Factibilidad	Total
Trato despersonalizado entre el personal de enfermería que labora en el servicio de toco-cirugía hacia su par en el servicio de recuperación de ginecología.	4	5	2	1	12
No se notifica en las condiciones en que nació el bebé durante su entrega al personal de enfermería del siguiente servicio.	4	4	3	2	13
No se notifica al personal de enfermería condiciones de salud propias de la madre, durante sus procesos continuo de cuidado	4	5	3	2	14
No se notifica al personal de enfermería riesgos de infecciones de transmisión sexual detectados en la madre al realizar procesos obstétricos	4	5	3	2	14
Registros epidemiológicos de riesgos de infección de transmisión sexual poco confiables, para mantener a la mujer y su pareja en permanencia de tratamiento posterior al evento obstétrico.	5	5	2	4	16
Poca participación de la madre para brindar seno a su hijo. (buscar la lactancia materna exitosa)	5	5	4	3	17
Condiciones físicas inadecuadas (pezón no apto).	3	5	4	4	16
Poca participación de la mujer embarazada para cumplir el control prenatal y recibir educación para la salud.	5	5	3	2	15

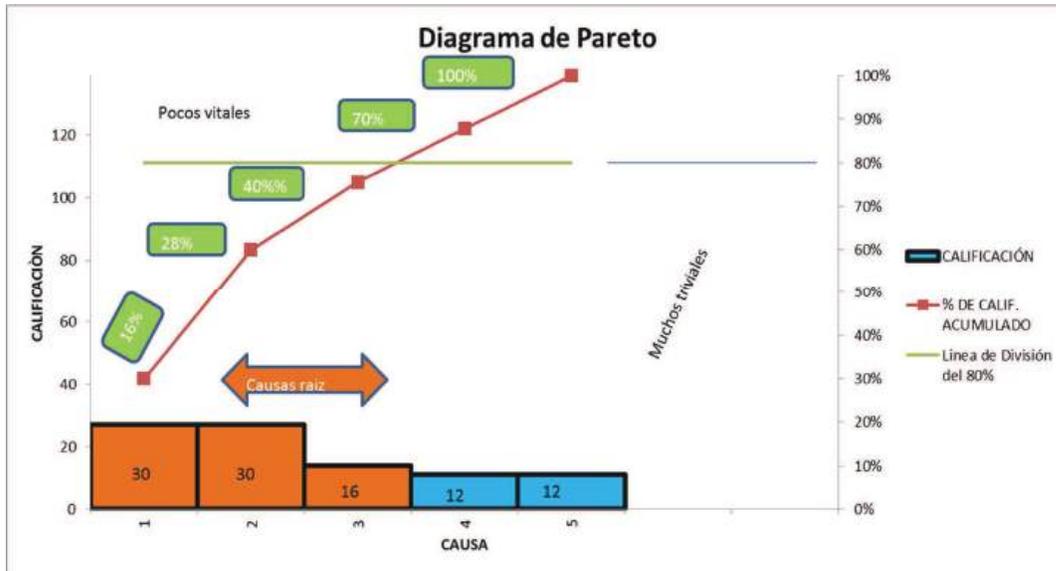
Magnitud: ¿Qué tan grande es el problema?., Trascendencia: ¿Qué nivel de impacto tendría el resolver el problema?., Vulnerabilidad: ¿Se puede solucionar el problema? y Factibilidad: ¿Podemos realmente resolver este problema con nuestros recursos (materiales, humanos, equipo)?

Matriz de priorización; en esta matriz ponemos las causas agrupadas (en caso de haber encontrado causas afines) y cada uno de los integrantes del equipo de mejora otorgará una calificación a cada causa siendo 1 la causa que nosotros pensamos afecta en menor grado al problema, y la calificación mayor a otorgar dependerá del número total de causas probables identificadas (ejemplo: si son 9 causas en total, la escala será del 1 al 9). La calificación mayor indicará que esa causa en particular tiene un mayor grado de afectación o impacto en el problema. A esta técnica de evaluación la denominamos grupo nominal.

Tabla 2. Causas agrupadas en matriz

No.	Causa	Integrantes del equipo						TOTAL
		1	2	3	4	5	6	
1.	Trato despersonalizado entre el personal de enfermería que labora en el servicio de toco-cirugía hacia su par en el servicio de recuperación de ginecología.	3	2	3	1	2	3	14
2.	No se notifica en las condiciones en que nació el bebé durante su entrega al personal de enfermería del siguiente servicio.	2	1	2	3	1	2	11
3.	Registros epidemiológicos de riesgos de infección de transmisión sexual poco confiables, para mantener a la mujer y su pareja en permanencia de tratamiento posterior al evento obstétrico.	1	3	1	2	3	1	11
4.	Poca participación de la madre para brindar seno a su hijo. (buscar la lactancia materna exitosa)	5	4	5	4	5	4	27
5.	Poca participación de la mujer embarazada para cumplir el control prenatal y recibir educación para la salud.	4	5	4	5	4	5	27

Figura 1. Diagrama de Pareto



Plan de acción o de mejora (5W / 1H)

Selecciona las mejores alternativas de solución (las que hayan obtenido el puntaje mayor y que sean factibles de llevar a cabo). Diseña el plan de ejecución (Plan de acción 5W y 1H) de las acciones establecidas:

Resultados

La lactancia materna ha sido durante mucho tiempo la manera en que se brindan los nutrientes necesarios al recién nacido de la manera más natural, es importante disminuir el uso de biberones ya que aumentan riesgos de enfermedades en los pequeños. Así mismo debido a que en este grupo 14-19 se encontraron porcentajes altos de mujeres multíparas y más de 100 cesáreas, aun siendo este grupo el que acude el mayor número de veces a consultas prenatales no se observa la sensibilidad ni la disposición de la mujer que cursa la fases de puerperio inmediato para llevar a cabo la lactancia materna, con lo cual la cesárea es un factor que no permite una lactancia confortable, así como los problemas de pezón. Mediante educación para la salud se pretende llegar a una lactancia exitosa en los diferentes grupos de edad. Será validado al año de la implementación del proyecto de mejora “Lactancia materna exitosa” el cual se estará implementando en cuanto sea aprobado.

Tabla 3 Registro de enfermería del número de consultas al control prenatal en el servicio de recuperación - ginecológica realizado en el primer cuatrimestre, 2014. Hospital General de Los Mochis, Dr. Jesús Kúmate Rodríguez.

Tabla 3 Registro de enfermería del número de partos y cesáreas en los diferentes tipo de mujeres (primigestas y multíparas) en el servicio de recuperación - ginecológica realizado en el primer cuatrimestre, 2014. Hospital General de Los Mochis, Dr. Jesús Kùmate Rodríguez.

EDAD	GESTACION				Total
	PRIMIGESTA		MULTIPARA		
	Parto	Cesárea	Parto	Cesárea	
10-14	9	3	0	1	13
15-19	166	78	77	53	374
20-24	65	60	136	126	387
25-29	12	21	117	93	243
30-34	2	6	76	50	134
35-39	0	0	39	25	64
40-44	0	2	4	6	12
Más de 45	0	0	1	2	3
TOTAL	254	170	450	356	1230

EDAD	Ocasiones que acudió a control pre-natal									Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	Más de 9	
10-14	1	1	1	2	0	1	3	1	3	13
15-19	25	22	27	31	34	33	28	55	119	374
20-24	11	18	27	31	36	50	45	52	117	387
25-29	8	14	8	18	17	12	33	44	89	243
30-34	4	6	8	9	16	14	18	19	40	134
35-39	1	1	4	5	6	8	9	10	20	64
40-44	0	1	1	0	0	3	0	1	6	12
Más de 45	0	0	0	1	0	1	0	1	0	3
Total	50	59	76	95	109	122	136	179	394	1230

Discusiones y conclusiones

Para que la lactancia materna se inicie y establezca debidamente, es preciso que durante el embarazo y el puerperio las madres cuenten con el apoyo activo, no sólo de sus familiares y la comunidad, sino también con la totalidad del sistema de salud, y que los que se ponen en contacto con las futuras y nuevas madres, estén interesados por promover la lactancia natural y sean capaces de facilitar la información oportuna y poseer un buen conocimiento de cómo se mantiene la lactancia, así mismo dar a conocer los grandes beneficios que tiene la leche materna para el binomio y tomar en cuenta los factores bio-psico-sociales que puedan interferir en no alimentar al recién nacido. Concluyendo que la investigación científica es una actividad que va orientada a la obtención de nuevos conocimientos y su aplicación para la solución de problemas, por ello para el cumplimiento de una lactancia materna exitosa de acuerdo a la realidad por las vivencias, experiencias y cualidades de cada mujer, ha marcado como

profesionales de enfermería a tener una mejor perspectiva en la colaboración de atender ese aspecto y así el equipo de salud garantice su éxito.

Agradecimientos

Agradezco de manera especial a la M.E Narce Dalia Reyes Pérez, de la Escuela Superior de Enfermería Mochis por permitirme desarrollar este proyecto en colaboración de la M.C Laura Elena Reyes Barribas y M.C.I.E. Luz Ester Verdugo Blanco. Debo agradecer la paciencia, disponibilidad, generosidad para compartir su experiencia y amplio conocimiento sobre la fabricación del material de este proyecto. Su colaboración fue de gran ayuda durante mi estancia en la cual tuve todo el soporte profesional y logístico para alcanzar los objetivos perseguidos. Muchas gracias por permitirme vivir una experiencia tan importante para mi formación como investigador.

Referencias

Depósito de documento de la FAO, nutrición humana en el mundo en desarrollo, capítulo 7 Lactancia materna. Obtenido de: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0b.htm>

La ruta de la calidad, Dr. Primitivo Reyes A. obtenido de: <http://es.slideshare.net/jcfdezmx2/la-ruta-de-la-calidad-presentation>

Ma. Jesús Geijo, Pediatra de Atención Primaria C.S Las margaritas Madrid, Noviembre, 2007, Lactancia materna. Obtenido de: http://www.uv.es/previnfad/sesiones/GpapA10_LM2

Universia, España: noticias de actualidad, Aspectos históricos de la lactancia materna. Obtenido de: <http://noticias.universia.es/vida-universitaria/noticia/2005/08/17/667103/aspectos-historicos-lactancia-materna.html>



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Meduloblastoma

Gisela Martha Silva (Becario Programa Delfin)

thiago_evan1208@live.com.mx

Unidad Académica de Enfermería No.2. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Enrique Javier López Aguilar (Asesor)

Centro Médico Nacional Siglo XXI

Resumen

Trabajo realizado con la asignación de un niño de edad pediátrica con enfermedad de meduloblastoma, solo fue el seguimiento de su tratamiento para observar como era su evolución, conociendo lo que es su enfermedad, el tratamiento que llevaba, cuáles eran sus reacciones y procedimientos realizados. Este paciente iba a su tratamiento de su 10° quimioterapia de 12° indicadas con esquema ICE (Ifosfamida, Cisplatino y VP16 (Etoposido). Dando una respuesta favorable a su evolución. Por ahora el niño ya curso también su 11° sesión con buena respuesta al tratamiento, solo en espera a su última quimioterapia para después solo ir a citas de rutina esto son 5 años de vigilancia, cada año se prolonga más la cita empezando con mes a mes y así sucesivamente, después que hayan pasado los 5 años de vigilancia sin ningún dato de alarma o proliferación del tumor quiere decir que el paciente está curado de cáncer. El meduloblastoma es un tumor intracraneal de células pequeñas embrionarias que se originan a nivel del cerebelo, estos tumores son grado IV de malignidad.

Palabras clave: meduloblastoma, tumor intracraneal, cerebelo.

Introducción

El meduloblastoma es un tumor intracraneal de células pequeñas en el tejido del cerebro que se forma a nivel del cerebelo, estos tumores son grado IV de malignidad producen en la mayoría de las ocasiones hidrocefalia, predominan en edad pediátrica preferentemente en niños, el cerebelo es el órgano encargado de los movimientos, equilibrio, temperatura, postura etc. para el tratamiento del meduloblastoma se requiere cirugía para extirpar el tumor, y como medidas coadyuvantes quimioterapia y radioterapia. *Cuadro clínico:* Cuando presentan hidrocefalia se suelen manifestar por signos de hipertensión endocraneal (Cefalea, náuseas, vómitos). Se debe a una obstrucción en los ventrículos. Los vómitos suelen ser matutinos. Si se presentan por sintomatología cerebelosa suelen debutar con ataxia de tronco y apendicular, por lo que a pueden tropezar o caminar de manera torpe o no coordinada. También puede estar afectada el habla, los síntomas dependerán del tamaño y de la localización del tumor, los niños aparecen a menudo cansados, débiles e irritables. *Diagnóstico:* se hace por radiografía de cráneo puede evidenciar signos de HIC (hipertensión intra craneal), diastasis de suturas. En la TAC (tomografía axial computarizada) aparecen como zonas uniformes de alta densidad, que captan homogéneamente el contraste, situados en la línea media. La RM (resonancia magnética) es superior a la TAC en la identificación y limitación del tumor, con imágenes hiperintensas en T2 que captan gadolinio. La neuroimagen permite evaluar la diseminación subaracnoidea presente

en la primera exploración en el 30% de los casos, y el grado de hidrocefalia así como controlar la evolución del tumor y detectar recidivas. LCR (líquido cefalorraquídeo) detectar células malignas. El estudio de marcadores tumorales en el LCR, especialmente el grupo de las poliaminas, ha demostrado ser útil para la detección de recidivas en este tumor. La TAC con mielografía y la RM permiten variar la extensión medular de la enfermedad. *Tratamiento;* este es complejo debido a la alta malignidad del tumor, su facilidad de difusión a través del espacio subaracnoidea y al alto índice de recidivas .tratamiento quirúrgico su objetivo principal es confirmar la naturaleza del tumor (biopsia) y disminuir la masa tumoral. Un resección la más amplia posible, limitada por las posibles lesiones a nivel del tronco encefálico, va enseguida de un mejor pronóstico. La colocación de una derivación ventricular previa a la intervención directa del tumor, en los que el grado de hidrocefalia es importante. La RT (radioterapia) es universalmente aceptada como el tratamiento de elección en el meduloblastoma. La QT (quimioterapia se utiliza ya como tratamiento inicial y especialmente en las recidivas. La variedad de los protocolos utilizados dificulta la valoración de los resultados.

Los primeros estudios sobre este tumor condujeron a la teoría que el meduloblastoma se origina de células primitivas o pluripotenciales halladas en la zona germinativa del velum medular posterior. Estas células migran hacia arriba y hacia los lados formando la capa granular externa de los hemisferios cerebelosos. El meduloblastoma puede desarrollarse en cualquier punto de la ruta de migración, medialmente o lateralmente. De este modo, se encuentra que el meduloblastoma emerge del techo del IV ventrículo en contacto directo con el líquido cefalorraquídeo, el cual se constituye como su principal vía de diseminación. Este es un tumor embrionario de crecimiento rápido que se desarrolla en la parte posterior del vermis cerebeloso y suelo neuroepitelial del IV ventrículo de los niños, raramente en el cerebelo de los adultos. La diseminación del tumor puede ocurrir en las superficies meníngicas y cisterna magna y alrededor de la médula espinal. El tumor es sólido, bien delimitado del tejido cerebral circundante. Es muy celular, las células son pequeñas, con núcleos hiper cromáticos, poco citoplasma, muchas mitosis y tendencia a formas pseudorosetas. Las pruebas de imagen son importantes no sólo porque la valoración diagnóstica inicial indica el tipo de cirugía a realizar, que presenta un valor pronóstico, sino para el planteamiento terapéutico posterior, teniendo en cuenta que determinan, entre otras, la diseminación y el resto tumoral posquirúrgico, factores de riesgo en este tumor. Una mejor comprensión de las características biológicas y moleculares del meduloblastoma promete un cambio dramático hacia la precisión en la estadificación y el tratamiento tumoral en un futuro próximo, favoreciendo aún más la actual mejora de la supervivencia. Biológicamente es un tumor con un rápido índice de crecimiento cuyas células se diseminan fácilmente a través del LCR pudiéndose encontrar nódulos y placas tumorales en el sistema ventricular y la cara dorsal de la médula espinal; en ocasiones metastatiza de forma difusa en el espacio subaracnoide la convexidad. La metástasis supratentoriales en los hemisferios cerebrales son menos frecuente, las metástasis sistémicas son posibles y los huesos, los pulmones y los ganglios linfáticos son los más afectados.

El síndrome de HIC es la manifestación clínica más frecuente y se debe a un bloqueo de la circulación del LCR a nivel del acueducto y el IV ventrículo. Dada la frecuente situación del tumor en la línea media de los signos y síntomas derivados de la afectación vermiana son dominantes. Los más constantes son cefaleas, vómitos, papiledema y ataxia troncal. Los vómitos secundarios a la HIC y/o a la irritación directa del piso del IV ventrículo pueden ser recurrentes. La ataxia se manifiesta al inicio como una inestabilidad en la marcha que aumenta progresivamente hasta llegar a imposibilitarla. Otros signos cerebelosos son los trastornos del habla con palabra lenta y monótona, nistagmus, hipotonía, dismetría, temblor. La lateralización cefálica es un signo frecuente y sugiere un crecimiento tumoral a través de la cisterna magna y una herniación de las amígdalas cerebelosas a través del foramen occipital; el niño se resiste a los intentos de movilización pasiva. La afectación de pares craneanos no es frecuente al inicio de la enfermedad; el papiledema y un VI par secundarios a la HIC son los más constantes; a medida que progresa la enfermedad aparecen signos de afectación del tronco encefálico y la médula. El pronóstico viene condicionado asimismo por la morbilidad producida por el tratamiento. Los efectos secundarios de un tratamiento agresivo son: dificultades escolares, trastornos de conducta, estatura baja, hipotiroidismo, déficit de hormona del crecimiento, posibilidades de un segundo tumor, radionecrosis.

Clasificación; todo meduloblastoma corresponde a un grado IV de la OMS (organización mundial de la salud) (muy malignos). Subtipos histopatológicos: Clásico (90%): células pequeñas indiferenciadas empaquetadas de forma densa con núcleo hiper cromático y células en rosetas de Homer-Wright. Conocido también como "tumor azul". Apariencia monótona. Desmoplásico (6%): similar al clásico pero con isletas pálidas. Más frecuente en adultos. El pronóstico se cree que es el mismo o incluso mejor al ser menos agresivo. Células grandes (4%): nucléolo grande, redondo y/o pleomórfico. Mayor actividad mitótica. Los pocos casos reportados fueron personas de sexo masculino. El más agresivo de todos.

Caso clínico; Niño Luis Fernando Colomo Díaz, peso 22 kg., 7 años 11 meses, 1.18 cm, lugar de nacimiento y residencia: Tapachula, Chiapas, motivo de ingreso: 10° sesión de quimioterapia, *diagnostico:* Meduloblastoma, *Procedimientos:* 31/08/13. Ventriculostomía, 02/09/13. Qx (cirugía). Para resección tumoral 90%, 09/09/13. Traqueostomía, 20/09/13. Interiorización del sistema de derivación y 25/05/14. Cierre de traqueostomía.

Antecedentes; AHF (antecedentes heredofamiliares): madre de 28 años, casada, católica, secundaria, ama de casa, toxicomanías negadas, sana. Padre de 34 años, casado, católico, preparatoria, labora como campesino, tabaquismo negado, alcoholismo social, sano. Tiene 2 hermanos aparentemente sanos. APN (antecedentes perinatales): producto de la 1era gesta de madre antes 22 años, embarazo complicado con hiperémesis gravídica hasta los 9 meses de gestación, se obtuvo a término de 38 SDG (cesárea), lloro y respiro al nacer, apgar no recuerda, peso: 3.100 kg, talla: 50cm, alta junto con la madre, alimento con seno materno (6 meses). APP (antecedentes personales patológicos): antecedentes alérgicos, quirúrgico, traumáticos y transfusiones interrogadas y negadas, niega hospitalización previa así como ingesta crónica de medicamentos, transfusiones positivas en padecimiento actual en 2 ocasiones sin complicaciones, Qx. (+) para resección. APNP (antecedentes personales no patológicos): vive en casa propia, todos los servicios de urbanización, convivencia con animales negadas, inmunización completa, desarrollo psicomotor adecuado, hábitos higiénicos y alimenticios buenos, rendimiento escolar bueno acudía a 2° de primaria.

Meduloblastoma de fosa posterior; inicia su padecimiento el 20/08/13 de manera súbita con cefalea frontal irradiada a zona occipital, de predominio vespertino, marcha atáxica con lateropulsión hacia la izquierda, ataque al estado general, por lo que se realiza TAC de cráneo en su HGZ encontrando tumor en fosa posterior e hidrocefalia, motivo por el cual es enviado a esta unidad para continuar tratamiento. A su llegada, el 30/08/13 se realiza RM de cráneo donde se confirma tumor de fosa posterior, así como hidrocefalia e imágenes sugestivas de enclavamiento por lo que se ingresa cirugía para realización urgente de ventriculostomía el 31/08/13. Ingres a UTIP, donde se mantiene bajo ventilación mecánica y apoyo aminérgico, presentando el día 02/09/13 nuevo ingreso a quirófano para resección tumoral reportada del 90%, observando tumor grisáceo y vascularizado con PQ 2013-1057 Meduloblastoma, y el 09/09/13 por intubación prolongada se realiza traqueostomía. Cursa en el postquirúrgico con infección de herida quirúrgica y fistula de LCR, así como traqueítis con cultivos positivos para *S. maltophilia*, por lo que se deja manejo antibiótico remitiendo ventriculitis e interiorizando sistema de derivación el día 20/09/13, con buena evolución, actualmente en condiciones clínicas y hematoinfecciosas para inicio de tratamiento específico, motivo por el que se indicó manejo antimicrobiano remitiendo ventriculitis e interiorizando el sistema de derivación el día 02/09/13 con buena evolución, por lo cual inicio quimioterapia en octubre del 2013 cursa con neutropenia grave para lo cual se inició protocolo de fiebre y neutropenia, 24/10/13 2 ciclo de quimioterapia, 20/11/13 3 ciclo de QT, 21/11/13 3 ciclo de QT, 19/12/13 4 ciclo de QT, 23/01/14 5 ciclo de QT, 20/02/14 6 ciclo de QT, radioterapia con DT 200 v, por DVHV 03/04/14 7 ciclo de QT, 06/05/14 8 ciclo de QT, 05/06/14 9 ciclo de QT. En esta oportunidad ingresa a su 10 de quimioterapia de forma programada, ver figura 1 y 2.

Padecimiento actual; paciente que acude asintomático, programado de la consulta externa para admisión de su 10° Quimioterapia, con adecuada tolerancia enteral, hemodinámicamente estable, sin datos de respuesta inflamatoria sistémica, sin contraindicación clínica ni hematológica para su inicio. Quimioterapia (ICE); Carboplatina, 400mg IV diluidos en 200 ml solución salina pasar en 1 H, dosis única, Ifosfamida. 1.6 gr IV diluidos en 200 ml solución salina pasar en 1 cada 24 h, por 3 dosis. VP16, 80 mg IV diluidos en 50 ml solución salina pasar en 1 cada 24 h, por 3 dosis.

Exámenes de laboratorio: Hemoglobina. 11.1, Hematocritos. 37.4, Leucocitos. 2770, NA. 1130, Plaquetas. 391.000, Creatinina. 0.38, Neutrófilos. 1130, Linfocitos. 1000, Sodio (NA). 141.9, Potasio. 3.65, Cloro. 105, Fosforo. 5.2, Magnesio. 2.59.

Exploración física: Paciente consciente, orientado, Glasgow de 15/15, con alopecia adecuada valoración de tegumentos. Cráneo con cicatriz quirúrgica limpia, trayecto valvular sin alteraciones. Con pupilas isocóricas con adecuada respuesta a la luz, narinas permeables, mucosa oral bien hidratadas, faringe hiperémica con descarga retranasal. Cuello con herida cubierta, sin datos de sangrado. Tórax con movimiento de amplexión y amplexación simétricos bilaterales. Área pulmonar con buena entrada y salida de aire. Ruidos cardíacos rítmicos de buen tono, ritmo e intensidad. Abdomen blando, depresible, peristalsis presente, con cicatriz quirúrgica sin alteraciones. Genitales sin alteraciones, extremidades integra con pulsos periféricos presentes.

Salida del hospital: Paciente egresa el día 07/07/14 asintomático consciente orientado, con buena evolución, el cual termino con su QT sin ningún riesgo de toxicidad o alguna alteración. Neurológicamente integro, con adecuada hidratación y extremidades integra.

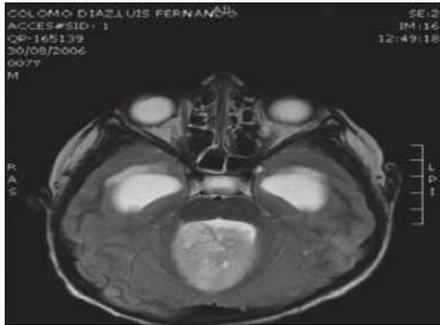


Figura 1. Imagen de TAC de cráneo, se muestra bien delimitado el tumor en la fosa posterior

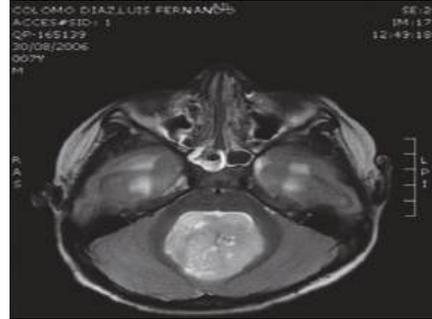


Figura 2. TAC de cráneo mostrando el tumor heterogéneo delimitado en fosa posterior con edema perilesional

Conclusión

Paciente pediátrico con Dx de Meduloblastoma, con buena evolución al tratamiento, neurológicamente estable, quimioterapias favorables a su tumor, solo restan las demás quimioterapias para completar su ciclo llevando 11 de los 12 indicados, bastaría corroborar que las quimioterapias han logrado el objetivo de destruir las células malignas y así seguir con el protocolo y estar al tanto que el tumor no vuelva a reaparecer. Vigilar la evolución del paciente llevaría al cabo de 5 años citándolo al mes del primer año de haber concluido el tratamiento con QT, y así aumentando un mes por cada año de vigilancia. Terminando los 5 años de vigilancia ya sería más favorable el pronóstico de vida del paciente, aunque no está intacto a alguna recaída, por el momento la sobrevida del paciente es buena ya que lograron la resección de la mayor parte del tumor con un 90% y con las medidas adyuvantes de la RT y QT han logrado que no haya residuos del tumor, por el momento el paciente no presenta alguna secuela de las QT con toxicidad o alguna otra alteración en su SNC. Las imágenes son de vital ayuda para el tratamiento para el tumor ya que de estas se guía para saber exactamente su localización, el pronóstico del tratamiento y el grado de resección tumoral, y el avance a la estadificación tumoral para corroborar si hay resto de residuo tumoral y tener un diagnóstico de sobrevida más favorable al paciente.

Referencias

- <http://www.meb.uni-bonn.de/cancernet/spanish/200048.html>
- <http://zl.elsevier.es/es/revista/radiologia-119/meduloblastoma-pediatico-revision-puesta-al-dia-90002972-actualizaciones-2011>
- <http://www.meb.uni-bonn.de/cancer.gov/CDR0000256770.html>
- <http://zl.elsevier.es/es/revista/radiologia-119/meduloblastoma-pediatico-revision-puesta-al-dia-90002972-actualizaciones-2011>
- http://neurocirugia.cl/new/images/revistas/rev_29/7Meduloblastoma29.pdf
- <http://drafreeman10x.blogspot.mx/2008/07/sindrome-de-hipertension-intracranial.html>
- <http://herenciageneticayenfermedad.blogspot.mx/2009/12/el-gen-math1-se-asocia-con-el.ht>



Oncología pediátrica

Ma. Guadalupe Briones Serrato (Becario del Programa Delfín)

bellaprinces@live.com.mx

Unidad Académica de Enfermería. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Javier Enrique López Aguilar (Asesor)

Servicio de Oncología de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Pediatría Centro
Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Resumen

Todos los tipos de cáncer, incluyendo los que se dan en la infancia, tienen un proceso patológico común: las células cancerosas crecen de forma descontrolada, adquieren tamaños y morfologías anómalos, ignoran sus límites habituales en el interior del cuerpo, destruyen células vecinas y, al final, se acaban extendiendo a otros órganos y tejidos. Los tumores cerebrales se encuentran en el segundo lugar de los cánceres más comunes en los niños, siguiendo solamente a la leucemia. Los efectos específicos de un tumor cerebral dependen de la posición exacta en el cerebro. Una invasión directa en los tejidos normales o una compresión del tejido son las causas usuales de los síntomas. El conocimiento del cuadro clínico y de los hallazgos radiológicos, es importante ya que en la mayoría de los casos, éstos no se diagnostican de una manera oportuna y llegan a los centros de manejo especializados en una etapa avanzada. El manejo de un niño con un tumor cerebral debe darse sobre la base de un tratamiento multidisciplinario en el cual se debe contar con las tres armas estratégicas con las que al momento actual se cuentan: cirugía, quimioterapia y radioterapia, manejadas todas ellas con los mayores conocimientos y actualización con la que sea posible. En quimioterapia se han logrado avances importantes al entender el comportamiento biológico de estos tumores lo cual permite dar tratamientos con blancos dirigidos a las diferentes fases del ciclo celular; en radioterapia el manejo tridimensional de estos tumores, ha ayudado a mejorar las expectativas. Sin duda un avance importante ha sido el empleo de la quimioterapia metronómica para el tratamiento de los niños con tumores de tallo cerebral, combinando varias drogas, a dosis bajas pero continuas, con diferente sitio y mecanismo de acción mejorando la vida de estos pacientes cerca de 50% a dos años.

Palabras clave: infancia, tumores cerebrales, conocimiento del cuadro clínico.

Introducción

Los mecanismos que regulan la muerte celular son esenciales para el normal desarrollo y mantenimiento de la homeostasia en los tejidos (Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR, 1991). Las células crecen controladamente gracias a la expresión de genes que inducen señales de muerte en estadios definidos de diferenciación y en respuesta a estímulos fisiológicos determinados (Martín SJ, 1993). Debido a que la apoptosis puede considerarse como un proceso de eliminación de células defectuosas, la desregulación de los genes que codifican las proteínas relacionadas con la apoptosis puede ser la causa de desarrollo de diversos tumores (Boise LH, Gonzales-García M, Postema CE, 1993). Los tumores cerebrales, representan el tipo de tumor sólido, más frecuente en la edad pediátrica, siendo los segundos en frecuencia general después del grupo conformado por leucemias y linfomas (Magrath I, Gad-el-Mawla N, Peng HL,

Spelman S, Camargo B, Petrilli S, Diez, 1993). Los signos y síntomas de la disfunción neurológica en un niño con un tumor cerebral varían y dependen tanto de la edad y desarrollo del niño como de la localización y origen de la tumoración. Es importante siempre mencionar los signos y síntomas, aunque de manera somera, que estos pacientes presentan, dado que llegan en etapas muy avanzadas de la enfermedad a la unidad de salud, incluso, no son referidos de manera adecuada en muchos de los casos por los médicos cirujanos, que en las más de las veces, son los que tienen el primer contacto con estos pacientes. Debe saberse que no existen signos o síntomas patognomónicos para el diagnóstico de un tumor cerebral en pediatría, sino que estos de manera inicial van en relación al incremento de la presión intracraneal, la cual puede deberse o bien a una masa que crece y que ocupa espacio o a la obstrucción en la circulación de líquido cefalorraquídeo. Estos síntomas atribuidos a un lento desarrollo de la presión intracraneal pueden ser irritabilidad, letargia, vómito, anorexia, cefalea y muy frecuentemente cambios en la conducta. Muchos de estos tumores se acompañan de alteraciones en la personalidad y es bien conocido que signos y síntomas focalizados no necesariamente van de la mano a una enfermedad focalizada. De manera similar, una cefalea focalizada acompañada de ataxia y cambios en la conducta, pueden todos reflejar un proceso intracraneano generalizado, el vómito puede presentarse en cualquier tipo de tumoración, debido al incremento generalizado de la presión intracraneana o bien por irritación directa del núcleo vagal o del centro del vómito localizado en el piso del cuarto ventrículo. El vómito puede ser cíclico y contrario al conocimiento popular, éste generalmente no es en proyectil y puede ocurrir diariamente, predominantemente por las mañanas y seguidos por un periodo de resolución y aunque estos ocurren en la etapa inicial de la tumoración, posteriormente pareciera que disminuyen por un acomodamiento de las suturas craneales o por una adaptación al incremento de la hipertensión endocraneana. Cuando se combinan dos síntomas como cefalea o vómito, entonces ya es más sugestivo de una tumoración, sobre todo si se presentan por la mañana después de levantarse. Conociendo ya los principales signos y síntomas que se presentan en estos pacientes, se tiene ya la herramienta básica para poder diagnosticarlos. Cuando la sospecha clínica lo justifica, el estudio de gabinete de elección para establecer el diagnóstico es la imagen de resonancia magnética de cráneo que es más específica y sensible que la tomografía computarizada de cráneo en la cual pueden no hacerse evidentes algunas tumoraciones sobre todo los gliomas de bajo grado del tallo donde es difícil la identificación de la tumoración por simple estudio tomográfico. Ochoa Carrillo FJ (2011).

Diagnóstico; por lo general, los factores que desencadenan el cáncer en los niños no suelen coincidir con los que lo desencadenan en los adultos, como el hábito de fumar o la exposición a toxinas medioambientales. En contadas ocasiones, los niños que padecen determinadas afecciones de origen genético, como el síndrome de Down, tienen un riesgo incrementado de desarrollar cáncer. Asimismo, los niños que se han sometido a quimioterapia o radioterapia a raíz de un cáncer previo también tienen un riesgo incrementado de presentar otro cáncer en el futuro. Los tumores del SNC son los tumores sólidos más frecuentes en la edad pediátrica, en México la incidencia es de 17 por millón cada año y suceden 560 nuevos casos por año. (Velázquez L, López AE, Fajardo A, 1996). Conociendo ya los principales signos y síntomas que se presentan en estos pacientes, se tiene ya la herramienta básica para poder diagnosticarlos. Cuando la sospecha clínica lo justifica, el estudio de gabinete de elección para establecer el diagnóstico es la imagen de resonancia magnética de cráneo que es más específica y sensible que la tomografía computarizada de cráneo en la cual pueden no hacerse evidentes algunas tumoraciones sobre todo los gliomas de bajo grado del tallo donde es difícil la identificación de la tumoración por simple estudio tomográfico.

Tratamiento; todavía en la década pasada, definíamos el riesgo en los pacientes pediátricos con un tumor cerebral, y con ello el tratamiento que debían recibir, de acuerdo a tres parámetros: Parámetros clínicos. De acuerdo a la extensión de la enfermedad y si existía diseminación de ésta al neuroeje. Parámetros histológicos. De acuerdo al grado de malignidad, si existía anaplasia o no o necrosis, ó otros factores de malignidad. Parámetros radiológicos. Que con el advenimiento de imagen de resonancia magnética de cráneo y neuroeje, nos podían y pueden definir con detalle el sitio de la tumoración y estructuras que involucra. A si pues, el tratamiento sin duda, debe ser multidisciplinario. Participan áreas como la neurocirugía, la radioterapia y la quimioterapia, sin dejar a un lado el beneficio que otorga el manejo de la rehabilitación y el apoyo emocional así como la participación del pediatra y endocrinólogo, sobre todo éste último en los casos en los cuales se desarrolla un cuadro de diabetes insípida, o alteraciones neuroendocrinas secundarias al procedimiento quirúrgico y de radioterapia. 1.-Neurocirugía: es difícil cumplir el principal criterio oncológico quirúrgico –la resección de la tumoración con márgenes libres de células neoplásicas- y es que el tejido adyacente en el cual se origina es tejido funcional, por lo que es importante realizar un buen procedimiento quirúrgico sin dejar secuelas neurológicas permanentes. De tal manera que los objetivos que se pretenden mediante la cirugía son tres: a) Establecer el diagnóstico histopatológico; b) Reducir el efecto de masa de la tumoración que ocasiona obstrucción con mejoría en la circulación de líquido cefalorraquídeo y c) Potencialmente buscar la cura del paciente mediante la resección completa o, cuando esta no es posible, remover la mayor cantidad de tumor logrando una cito-reducción quirúrgica. El advenimiento del microscopio quirúrgico ha permitido mejorar la habilidad del neurocirujano

para desarrollar una microdissección extensa del tumor sin comprometer estructuras cerebrales funcionales reduciendo la morbilidad y mortalidad de estos pacientes. 2.- Radioterapia: Esta modalidad terapéutica es frecuentemente utilizada en el manejo de los niños con tumor cerebral. Biológicamente la radiación ionizante interactúa íntimamente con el DNA celular el cual es afectado directa e indirectamente después de la ionización intracelular, lo cual producirá radicales libres causando daño al DNA. El daño celular se puede observar durante los siguientes intentos de duplicación de la célula tumoral impidiendo la supervivencia de la clona celular eliminando el potencial de ésta de seguir creciendo y mandar metástasis. 3.- Quimioterapia: Existen varios esquemas hoy en día para el manejo de los tumores cerebrales. Para los astrocitomas de alto grado actualmente se están empleando esquemas conteniendo nitrosureas, con la incorporación de ifosfamida, el carboplatino y el etopósido. Para los meduloblastomas se ha demostrado la utilidad del carboplatino y el etopósido, así como una mejoría en la sobrevida al incorporar una tercera droga que es la ifosfamida en el clásico esquema de ICE. Temozolamida que es un agente alquilante oral de segunda generación con amplio espectro de actividad antitumoral.

Presentación de caso clínico; se presenta Brandon Salas Nieves, paciente de 3 años con 7 meses de edad, quien es diagnosticado con Tumor difuso de puente con extensión a mesencéfalo. Ingresó el día 17 de diciembre del 2013 por padecimiento consistente en 15 días con marcha atáxica e incoordinación motriz, con lateropulsión izquierda, la cual aumenta en intensidad de acuerdo a lo referido por la madre en los últimos días, presentando hemiparesia izquierda, con dificultad para enfocar objetos y cefalea persistente. Se realizó la historia clínica con la ayuda de una encuesta a la madre del paciente y con apoyo del expediente clínico, donde intervienen los servicios de pediatría, oncología, e infectología. Se le hizo la toma de una Tomografía Computarizada y radiografía de tórax. Se reporta paciente delicado si ser candidato a cirugía. Pese a manejo de quimioterapia (7/12) con ICE más temozolamida y radioterapia (por 30 días a un mes de haber iniciado la quimioterapia) el tumor permanece sin ningún cambio ni disminución aparente. Se encuentra con estabilidad hemodinámica y sin datos de respuesta inflamatoria, con hemocultivos negativos. Pronóstico reservado a evolución, actualmente está vivo, con ocho meses de seguimiento sin progresión.



Figura 1. Radiografía de tórax, sin aparente alteración en ambos pulmones

Discusión

Las nuevas direcciones en el tratamiento de los tumores cerebrales apuntan hacia un manejo multidisciplinario incorporando varias estrategias terapéuticas e individualizando los casos según sea la estirpe histológica de la tumoración, la localización, la extensión, la edad del paciente y el comportamiento biológico de la misma. Es evidente que el plantear una estrategia terapéutica para un niño con un tumor cerebral, va mucho más allá de la simplicidad de una valoración sustentada en elementos radiológicos e histológicos exclusivamente, sino que requiere de un estudio integral e individualizado en cada caso, tanto desde el punto de vista clínico, como radiológico, histológico y molecular, con el fin de entender a fondo su comportamiento biológico y a partir de ese momento, dirigir de una manera más adecuada, un tratamiento específico y personalizado a cada niño. En la etiología de los tumores infantiles, al contrario que en el adulto, existe una menor interacción entre factores genéticos y ambientales. En cuanto a los factores genéticos predisponentes para desarrollar un tumor cerebral, el 4% de los tumores cerebrales se asocian a síndromes hereditarios o enfermedades genéticas multifactoriales. (Asociación Española de Pediatría, 2008). Los factores de mal pronóstico ya conocidos son: edad menor de tres años, ya que estos pacientes no se les puede ofrecer radioterapia, así como localización e histología (López Aguilar *et al*, 1994). Los indicadores histológicos de anaplasia, y por lo tanto de malignidad, son: proliferación vascular y presencia de necrosis (Bailey P, Cushing H, 1996).

Conclusión

Ante lo ya expuesto, es trascendental conocer que cada paciente con un tumor cerebral, tiene un comportamiento diferente, por lo que es imperativo el intentar individualizar tratamientos y de esta forma poder brindar una estrategia terapéutica específica a cada paciente, de acuerdo al comportamiento biológico del tumor que presenta; se quiere mejorar la sobrevida y calidad de vida de los niños al ajustar estrategias terapéuticas de una manera más adecuada, razonando el empleo de nuevas drogas, como los antiangiogénicos. El conocimiento de los factores pronósticos, permite adecuar el tratamiento a los pacientes con cáncer. A pesar de que se conocen algunos factores pronósticos, continúa habiendo un grupo de pacientes con evolución desfavorable, por lo que es importante determinar los factores

que llevan a un peor pronóstico y de esta manera diferenciarlos y tratarlos de una manera más intensiva. En la mayoría de los casos, los cánceres infantiles se desarrollan a raíz de mutaciones (o cambios) no heredadas en los genes de unas células que todavía están en proceso de crecimiento. Puesto que estos errores ocurren al azar o de forma impredecible, no hay ninguna forma eficaz de prevenirlos. Es posible que un pediatra detecte algunos de los primeros síntomas del cáncer en la revisión médica periódica de un paciente. De todos modos, algunos de estos síntomas (como fiebre, ganglios linfáticos inflamados, infecciones frecuentes, anemia o moretones) también son propios de infecciones a otras afecciones que son mucho más frecuentes que el cáncer. Por este motivo, es lógico que tanto los pediatras como los padres sospechen otras enfermedades propias de la infancia cuando aparecen los primeros síntomas de cáncer. El tratamiento del cáncer en los niños puede incluir la quimioterapia, la radioterapia y la cirugía, en cada caso dependerá del tipo de cáncer, así como de su agresividad, lo extendido que esté y la edad del niño. El diagnóstico y tratamiento del cáncer infantil es un proceso largo que se asocia a efectos secundarios, tanto a corto como a largo plazo. Pero, gracias a los avances médicos, cada vez hay más niños con cáncer que completan el tratamiento con éxito y que pueden abandonar el medio hospitalario y crecer como cualquier otro niño. Actualmente, algunos grupos han logrado encontrar células madre en tumores cerebrales y se han logrado cultivar tanto de tejido cerebral sano como tumoral, con diferencias en la expresión de antígenos (Shingh SK, Clarke ID, 2004). Fue posible identificar subpoblaciones celulares concretas dentro del tumor cuando a nivel clonal se transplantaban en el cerebro de ratones inmunodeficientes. La aportación de los tumores cerebrales ha sido decisiva a la hora de aceptar la existencia de células madre tumorales. Shingh *et al* (2004). El crecimiento de las células madre tumorales se identifica mediante la formación de neuroesferas y en algunos estudios se ha demostrado que la formación de estas en tumores malignos tiene un gran peso pronóstico, de tal manera que aquellos que tiene mayor formación de neuroesferas indican rápida progresión tumoral y muerte a corto plazo, independientemente de la edad y género.

Agradecimientos

Quiero agradecer al Dr. Javier Enrique López Aguilar por haberme dado la oportunidad de participar en su proyecto de investigación, fue una experiencia agradable y sin duda me servirá de mucho, esperando tener el privilegio nuevamente de participar con él. También quiero agradecer al programa Delfín por brindar oportunidad y apoyar en la inquietud de querer conocer nuevos proyectos de investigación.

Referencias

Ochoa Carrillo, FJ. (2011), Gaceta Mexicana de Oncología, Vol. 10, Núm. 1, 3-45
KidsHealth (2010) Cáncer Infantil, Obtenido de http://kidshealth.org/parent/en_espanol/medicos/cancer_esp.html#



Percepción del personal enfermero del cambio de turno para un “enlace seguro–vida segura” en Hospital de Segundo Nivel.

Alejandro Filogonio Tapia Grande (Becario del programa Delfin)

chido_ALX@hotmail.com

Unidad académica de enfermería No 4. Universidad Autónoma de Guerrero

Ana Lilia Moreno Félix (Asesor)

Universidad Autónoma de Sinaloa, Mochis

M.C. José Félix Nava Nava

jnava2_uag@yahoo.com.mx

M.C.E. Rosalinda Villa Juárez

rosy_master20@hotmail.com

Unidad académica de Enfermería No 4. Universidad Autónoma de Guerrero

Resumen

Las notas de enfermería que realiza el personal en los diferentes servicios. Son un resumen de la veracidad de datos y de la dimensión legal, al igual que la historia clínica es un documento con capacidad demostrativa por excelencia, objeto de análisis e investigación dentro de la responsabilidad profesional, es aconsejable que el personal de enfermería ejecuten no solamente las notas de aquellos pacientes que consideren críticos sino, también los otros registros de enfermería como el control de líquidos, de medicamentos, de signos vitales, etc., teniendo en cuenta el cuidado de enfermería, que es la constancia escrita del acto de cuidado (Romano 2010). Con la finalidad de mejorar la calidad de vida del paciente se aplicó un: Estudio cualitativo, observacional, prospectivo y longitudinal. Metodología: Se trabajó en el área de UCI mediante un diario de campo en el cual se hizo una jerarquización de problemas en dicha área, el diagrama de causa – efecto (Ishikawa) se obtuvo una matriz priorización dando a este problema una puntuación con ello se aisló el problema, con el diagrama de Pareto se asignó un orden de prioridades, únicamente se trabajó con una sola, Enlace de turno. Conclusiones: En la actualidad una de las grandes problemáticas del hospital es el enlace de turno, en los diferentes servicios, en este caso centramos nuestra atención a la UCI por ser un área de cuidado crítico requiere de una mayor organización y comunicación de manera específica entre los profesionales de enfermería que están a cargo de los pacientes, debido a que se encuentran normalmente o totalmente dependiente de las acciones y decisiones que se tomen durante el turno, es por eso que la comunicación y vigilancia continua debe ser mediante una documentación eficiente.

Palabras clave: enlace de turno, notas de enfermería, registro de enfermería.

Introducción

El presente trabajo evidencia la falta de continuidad del cuidado proporcionado por el profesional de enfermería mediante los registros incompletos de las notas de enfermería que realiza en los diferentes servicios. Los expedientes clínicos son documentos que se elaboran a todo paciente al ingresar a una institución de salud, debe contener datos generales y específicos de la enfermedad, entre ellos el diagnóstico del paciente, historia clínica, observaciones, etc. por lo tanto es un documento médico-legal clínico, con base en él, todo paciente tiene la oportunidad de utilizarlo como un respaldo en caso de que se presente una negligencia médica. Uno de los documentos más importantes que contiene el expediente clínico son los registros de enfermería (Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, 2012). Las notas de enfermería son un resumen de los datos y desde la dimensión legal, objeto de análisis e investigación dentro de los procesos de responsabilidad profesional, es aconsejable que los enfermeros diligencien no solamente las notas de enfermería de aquellos pacientes que consideren críticos sino, también los otros registros como el registro del control de líquidos, de medicamentos, y de signos vitales, teniendo en cuenta el cuidado de enfermería, que es la constancia escrita del acto de cuidado no solamente refleja el ejercicio profesional sino es la prueba de los lineamientos humanos, éticos, técnicos y científicos desarrollados (Chavarro, 2011)

En las “notas de enfermería” se escriben las observaciones hechas por la enfermera y la manera como proporciona los cuidados al paciente. Sirven para registrar cinco clases de informes: medidas terapéuticas aplicadas por diversos miembros del equipo profesional, medidas terapéuticas ordenadas por el médico y aplicadas por el personal de enfermería (Jiménez, 2010). El Observatorio Regional estableció en 2010 un Plan de Riesgos Sanitarios donde se fijó un objetivo general que desarrolla a través de 6 objetivos específicos de actuación, siendo el quinto «Desarrollar herramientas para la identificación y valoración de los riesgos relacionados con la asistencia sanitaria». Estas herramientas, de acuerdo con lo establecido por las diferentes estrategias tanto nacionales como internacionales, son dos: el análisis causa raíz (ARC) y el análisis modal de fallos y efectos AMFE (Observatorio Regional, 2010). Posteriormente, en 2011, el mismo organismo ha publicado el documento «Estrategia de seguridad del paciente 2011-2012» en donde establece, «promover y compartir el AMFE de los procesos clínicos y de servicios clínicos críticos en seguridad del paciente» (Observatorio Regional, 2011).

Los servicios de UCI se caracterizan por usar siempre los equipos de última tecnología, lo que ha ocasionado que se confíe estrictamente los datos clínicos que arrojan estos equipos y se deja como menos importante la búsqueda de datos desde la humanidad del paciente y la comunicación terapéutica con él y su familia. Adicionalmente la situación económica y la crisis hospitalaria nacional, han ocasionado que la carga laboral sea mayor y el número de pacientes por cada Enfermero exceda (Rivera, 2012). Con la finalidad de mejorar la calidad de vida del paciente se aplicó un: Estudio cualitativo, observacional y prospectivo, con un enfoque antropológico de sombra.

Metodología

Se realizó un estudio de abordaje descriptivo, con metodología cualitativa, de corte longitudinal y prospectivo. Para la recolección de la información se utilizó el “diario de campo” basándose en la etnografía que es un método de investigación que consiste en observar para así poder contrastar lo que la gente percibe y hace, es una de las herramientas de investigación. En la investigación se tomó una muestra no probabilística de 7 enfermeras con perfil deseado, que laboraran en el área de Cuidados Intensivos, donde relucieron los problemas de del área, se hizo una jerarquización de los problemas, el diagrama de causa – efecto (Ishikawa) se obtuvo una matriz priorización dando a este problema una puntuación con ello se aisló el problema, con el diagrama de Pareto se asignó un orden de prioridades, únicamente se trabajó con una sola, Enlace de turno.

Resultados

Registros de enfermería: Durante la estancia en el Hospital General “Dr. Jesús Kumate Rodríguez” se observó que el servicio carecía de una buena organización y comunicación entre el personal de enfermería que labora en el área de UCI, con el seguimiento antropológico se observó la falta de comunicación entre el personal enfermero

tanto verbal y de manera formal por escrito, máxime que es un área que cuenta con pacientes en estado crítico, entregaban pacientes no detallando de manera general como lo dejaban, únicamente decían: —te entrego al paciente, tiene una sol. Mixta de 1000 para 24 horas, tiene control de líquidos, aplicación de medicamentos y cuidados de enfermería.

Esta es una situación de alarma, donde pueden presentarse eventos adversos, que se conviertan en sucesos punitivos, con consecuencias legales, que puedan privar de la libertad al personal de enfermería. En la figura 1 se puede observar el único formato que se tiene para el enlace de turno (formato de eventos adversos a medicamentos), no es de gran utilidad debido a que no se detalla por completo el estado de salud del paciente, solo es utilizado cuando ocurrió una reacción de medicamento en un paciente. Y esto no nos permite dar un mayor seguimiento al estado de salud. En los casos en donde no ocurrió evento alguno no es utilizado el formato y se puede apreciar que no va firmado ni dirigido a nadie, en cuanto al trabajo del departamento de calidad no supervisa por completo el área y con ello pasan por desapercibidos estos eventos, solo se archivan.

Figura 1. Formato de eventos adversos a medicamentos en el área de UCI

Ambiente de trabajo: En cuanto al ambiente que se manifiesta por parte del personal de enfermería de los diferentes turnos es inadecuado, y se pudo observar que uno de los turnos con mayores conflictos era el turno Matutino, el personal que trabaja en este turno manifestaba muchas quejas de los demás compañeros de los turnos (vespertino y nocturno). Se pudo escuchar como las enfermeras se quejaban del personal Nocturno: los de la noche se creen perfectos, dicen que no dejan pendientes pero todo el trabajo lo hacemos nosotros.

De acuerdo a lo observado todo el personal que labora en dicha área evade las quejas para evitarse de problemas y según ellos “llevar la fiesta en paz”, para que haya una mayor responsabilidad de labores no hay algo que justifique ni mucho menos que sea de valor legal para recalcar las funciones de cada turno, tal vez en el turno Matutino se ve indiferencia con los demás turnos porque es en donde se realizan mayores labores, pero como personal de enfermería se tienen que cumplir, se tiene que brindar una calidad y un cuidado holístico hacia el paciente tanto consciente como inconsciente. Lamentablemente es una problemática grave, se tiene que establecer un documento para que no haya quejas y así cada turno pueda hacer lo que le corresponde sin tener una comunicación inadecuada. En dicha área se tiene que hacer la diferencia de los demás servicios porque es ahí en donde presentan los pacientes más graves y sin una comunicación eficaz entre el personal no se le puede otorgar una buena calidad de salud y así una rápida mejoría. Todo esto con la finalidad de que no se presenten “problemas” tanto en la medicación como en los cuidados brindados por enfermería, no tiene que haber fallo de error, algunos de los pacientes ahí internados dependen totalmente del personal, y es ahí donde no hay error.

La enfermería tiene que caracterizarse por ser una disciplina y por brindar un cuidado holístico hacia quienes lo necesitan y dependen de esto, hoy en día se caracteriza por la prepotencia de algunos trabajadores del sector salud, y poco a poco se pierde la disciplina, se tienen que buscar nuevas estrategias para que no se pierda y así poder conservar lo que se le atribuye a enfermería.

Discusión

Según el Sistema Integral de Calidad los usuarios tienen derecho a los servicios de salud y a contar con una atención de calidad, con calidez y seguridad, es denominado por SICALIDAD como el proceso de Acreditación y Garantía de Calidad, que en concordancia con la Certificación de establecimientos de salud forma parte del aseguramiento de la calidad, bajo criterios técnicos destinados a elevar la calidad de las unidades médicas, en lo que concierne a calidad, capacidad y seguridad. Vargas menciona que las notas tienen que ser fuente constante de información para las enfermeras. Para ellas, los escritos bien diseñados y redactados con precisión serán de valor inestimable para un abogado defensor y proporcionarán pruebas ante los tribunales, ante una demanda. Existe duda de la calidad de los registros; en ellos, la causa más omitida es la relacionada con la mejoría del paciente. La NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico. Tiene como propósito establecer con precisión los criterios científicos, éticos, tecnológicos y administrativos obligatorios en la elaboración, integración, uso, manejo, archivo, conservación, propiedad, titularidad y confidencialidad del expediente clínico, el cual se constituye en una herramienta de uso obligatorio para el personal del área de la salud, de los sectores público, social y privado que integran el Sistema Nacional de Salud.

Noreña menciona que se han encontrado estudios en donde la comunicación en el hospital es deficiente, siendo el personal de enfermería la receptora de la confianza, dudas y preguntas sobre la información que el paciente recibe sobre su proceso, si bien el estado emocional del paciente es distinto al momento de su internamiento y cuando la enfermera intercambia experiencias con los pacientes, se propicia un ambiente de confianza y estabiliza su estado emocional, en un ambiente tranquilo Jiménez comenta que en general las notas de enfermería sirven para registrar cinco clases de informes: medidas terapéuticas aplicadas por diversos miembros del equipo profesional, medidas terapéuticas ordenadas por el médico y aplicadas por el personal de enfermería, medidas planeadas y ejecutadas por la enfermera que no fueron ordenadas por el médico, conducta del paciente y otras observaciones en relación con su estado de salud y respuestas específicas del paciente al tratamiento y los cuidados. Según Cortez explica que las notas de enfermería son un documento legal, y formal elaborado por la enfermera. El registro de enfermería contiene información veraz del PAE, que evidencia con precisión toda la asistencia profesional.

Rodríguez define que la gestión clínica hospitalaria requiere aplicar conocimientos del ámbito clínico y gerencial para desarrollar sus 2 pilares fundamentales: la gestión médica de “curar” y la gestión de Enfermería de “cuidar”, dichos ejes o pilares de la atención sanitaria son además enriquecidos con la participación de otras disciplinas que ofrecen respuestas a los problemas de salud de la población, dándole el carácter multidisciplinario al proceso de atención de salud de acuerdo a las necesidades del individuo, familia y/o comunidad. Pérez plantea que la enfermera en el ámbito hospitalario, se encamina al cuidado directo de los pacientes a cargo y conjuntamente la realización del correspondiente registro de notas de enfermería que evidencia la aplicación del proceso, garantizando la continuidad del cuidado; adicionalmente el profesional realiza actividades de tipo administrativo que hacen parte de este mismo proceso. Los registros de las notas de enfermería son de gran importancia tanto para el enriquecimiento de la disciplina, como en el mantenimiento de las actividades propias del área, es al paciente a quien se le satisfacen sus necesidades por medio de las intervenciones de cuidado integral y finalmente para la institución prestadora de servicios para brindar una atención de calidad, ofertada por los profesionales del equipo de salud en el que se encuentra laborando el profesional de enfermería. En general las notas de enfermería sirven para registrar las medidas terapéuticas indicadas por el médico y realizadas por la enfermera y las medidas planeadas y ejecutadas por personal de enfermería, las notas de enfermería debe elaborarse por el personal en turno, según la frecuencia establecida en base a las normas de la Institución y las indicaciones médicas de diagnóstico y tratamiento.

Rivera señala que los servicios de UCI se caracterizan por usar siempre los equipos de última tecnología, lo que ha ocasionado que se confíe estrictamente los datos clínicos que arrojan estos equipos y se deja como menos importante la búsqueda de datos desde la humanidad del paciente y la comunicación terapéutica con él y su familia. Adicionalmente la situación económica y la crisis hospitalaria nacional, han ocasionado que la carga laboral sea mayor y el número de pacientes por cada Enfermero exceda.

Conclusiones

La mayor parte del personal de enfermería que labora en el área de UCI, carece de una buena comunicación dejando así deficiente en este aspecto al área, con ello tenemos que, por tal motivo es un factor predisponente para un

mal enlace de turno, por eso se busca implementar estrategias para así mejorar en este aspecto y el paciente tenga una recuperación pronta, así mismo sabemos que como personal de enfermería el paciente inconsciente nos puede escuchar y tiene la sensación de dolor. Por tal motivo se implementó una bitácora y un registro de enlace de turno para con ello dar mayor seguimiento y tener documentado la evolución del paciente consciente e inconsciente. Actualmente vivimos en una sociedad en donde contamos que la comunicación eficaz día con día se pierde y hace a que todos nos acostumbremos a no tener una comunicación adecuada, con ello desde nuestra formación como personal de enfermería se nos implementaron estrategias para hacer la diferencia de toda la sociedad y nos conduzcamos adecuadamente. En nosotros licenciados en Enfermería que estamos en plena formación cabe hacer la diferencia para que en este país seamos reconocidos como lo que somos y no como la demás sociedad nos etiqueta.

Referencias

- Carmen Vargas-Cubero, María Aurelia Ruiz-Sánchez.** (2010). Aspectos legales de las notas de enfermería.
- Claudia Ariza Olarte.** Enfermera Cardióloga; la excelencia del cuidado. Un reto para enfermería. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/enfermeria/Enfermeria8105-Editorial.ht> .
- Cortez Cuaresma G, Castillo Lujan F.** (2008). Guía para aplicar Proceso de Enfermería. 4 Ed. Perú, pp. 9, 33 – 36, 45, 73, 87, 119 – 124. 2010.
- Jiménez VMC y cols.** (2012). Hojas de atención de enfermería, Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” Depto. De Enfermería pp21.
- López Pérez Cynthia Johana.** (2012). Evaluación de la calidad de las notas de enfermería en el área de hospitalización en una clínica de tercer nivel de atención de la ciudad de Cartagena.
- Noreña PAL, Cibanal JL, Alcaraz MN.** (2010). La interacción comunicativa en el cuidado de la salud. Rev. Esp Com Sal; 1 (2): 113-129. 2011.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012,** Del expediente clínico.
- Programa De Acción Específico 2007-2012** Sistema Integral de Calidad en Salud SICALIDAD.
- Rodríguez Quezada.** (2012). Manejo de herramientas de gestión y percepción del cuidado de Enfermería en hospitales de Chachapoyas, Perú.
- Rojas J.G, Pastor Durango P.** (2010). Aplicación del proceso de atención de enfermería en cuidados intensivos. Revista Investigación y Educación en Enfermería. vol. 28(3):323-335.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Polimorfismo -1154 G>A del gen de VEGF como factor de riesgo para desarrollar cáncer de próstata: Estudio preliminar

Isabel Montserrat Cortez de la Puente (Becario del programa Delfín)

montserrat_delapuate@otulook.es

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero

Dra. Abril B. Martínez Rizo (Asesor)

marab77@gmail.com

Unidad Académica de Medicina de la Universidad Autónoma de Nayarit.

Xavi Casillas Rangel², Christopher Peña-George³, José Navarro-Partida²,

Jesús Velázquez Fernández⁴, Verónica Mondragón Jaimes⁵

²Laboratorio de Investigación Biomédica, Universidad Autónoma de Nayarit;

³Hospital General de Zona 1, IMSS Nayarit;

⁴Laboratorio de Bioquímica Toxicológica, Universidad Autónoma de Nayarit;

⁵Laboratorio de Resistencia Bacteriana, Universidad Autónoma de Nayarit

Resumen

El cáncer de próstata (CaP) es de las causas más importantes de muerte en individuos de edad postproductiva en el estado de Nayarit. La angiogénesis es crucial para el desarrollo y metástasis del CaP y el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) es el mediador clave en este proceso. En estudios epidemiológicos e in vitro se ha asociado su sobreexpresión con el crecimiento y progresión del CaP. El polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) -1154 G>A se ha asociado, en diferentes poblaciones, con alto riesgo de desarrollar CaP; en población mexicana se carecen de estudios. El presente proyecto determinará las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP -1154 G>A (rs1570360) del gen de VEGF con el fin de identificar un marcador de desarrollo de CaP en la población mestizo-mexicana del occidente del país. Previo consentimiento informado se seleccionaron del Hospital General de Zona 1 Tepic a 604 pacientes con diagnóstico histopatológico de CaP y 70 controles, durante el periodo 2013-2014. De acuerdo a los Códigos

y Normas Internacionales vigentes para las Buenas Prácticas en la Investigación Clínica se les extrajo una muestra de sangre periférica. Se realizó la extracción de gDNA mediante el kit DNAEasy (Invitrogen) y se efectuó la genotipificación del SNP de interés mediante PCR en tiempo real utilizando el sistema TaqMan 5' (Applied Biosystems). Hasta el presente, de las 674 muestras de sangre periférica recolectadas, se ha extraído el gDNA a 214. Mediante PCR en tiempo real se ha identificado que el 62.92% son homocigotos para el alelo G y 7.86% para el alelo A, mientras que el 29.21% son heterocigotos (G/A) para dicho polimorfismo. El SNP -1154 G>A puede ser un marcador clave en la detección temprana de CaP.

Palabras clave: Cáncer de próstata, SNP, VEGF,

Introducción

El cáncer de próstata (CaP) es una de las neoplasias malignas más frecuente en los hombres y se incrementa conforme aumenta la edad. En el estado de Nayarit representa una importante causa de muerte con una tasa actual de 24.1% del total de defunciones registradas por cáncer reportadas por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en el 2012. En las primeras etapas de la enfermedad, el cáncer se limita a la próstata y no suele ser mortal. Su desarrollo se debe principalmente a la liberación de factores específicos capaces de estimular el crecimiento de los vasos sanguíneos, la angiogénesis. En 1971, Folkman publicó en el "New England Journal of Medicine" la hipótesis de que el crecimiento del tumor depende de la angiogénesis y, junto con sus colaboradores, proporcionó evidencia de la dependencia del crecimiento del tumor sobre la neovascularización basándose en su estudio realizado en cornea de ratones, notó que el crecimiento tumoral en la córnea avascular procede lentamente a una velocidad lineal, pero después de la vascularización, el crecimiento del tumor es exponencial. De ello, en 1989, una vez establecida la importancia de la angiogénesis y sus implicaciones en el desarrollo del cáncer, Napoleone Ferrara identificó el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) otorgándole el rol de principal mediador en el proceso angiogénico. Su efecto está mediado por tres por tres receptores con actividad tirosina-cinasa; VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR-Flk-1) y VEGFR-3 (Flt-4).

En tejidos prostáticos normales generalmente no expresan VEGF. Sin embargo, en un estudio inmunohistoquímico del material incluido en parafina de 55 cánceres de próstata se encontró un aumento significativo de la expresión de VEGF entre los pacientes con progresión tumoral y aquellos sin progresión tumoral. De allí se demostró que VEGF se correlaciona con el estadio del tumor, grado y el resultado clínico.

El gen que codifica para VEGF se encuentra en el cromosoma 6p21.3, y contiene ocho exones separados por siete intrones. Se han descrito varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el gen VEGF algunos de los cuales se ha demostrado que afectan a la expresión del gen. Debido a una substitución en un aminoácido que puede alterar la función de una proteína o producir un procesamiento alterado (splicing). Entre estos SNPs se encuentra el SNP -1154 G / A, donde el alelo G incrementa en la transcripción de VEGF y se relaciona con un incremento en el riesgo de desarrollar cáncer. Esto de acuerdo a varios estudios epidemiológicos desarrollados en China donde se realizó un meta-análisis de 7071 casos de cáncer y 7.693 controles procedentes de 16 estudios de casos y controles publicados. Dicho estudio reveló una asociación entre dicho polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer. Sin embargo, en población mexicana se carecen de estudios que indiquen una relación entre este SNP y el CaP. Por ello, el presente trabajo pretende implementar estrategias para la identificación temprana de los individuos con riesgo a desarrollar CaP en base a su asociación con el ya mencionado SNP y, así determinar el pronóstico y decidir el mejor tratamiento a emplear.

Material y Métodos

Población de estudio

Con previo consentimiento informado y de acuerdo a los Códigos y Normas Internacionales vigentes para las Buenas Prácticas en la Investigación Clínica, del Hospital General de Zona 1 Tepic se seleccionaron a 604 pacientes con diagnóstico histopatológico de CaP y 70 controles que cumplieran con los criterios de inclusión previamente establecidos, durante el periodo 2013-2014.

Criterios de inclusión

- Edad: mayor de 45 años
- Masculino
- Con diagnóstico histopatológico de CaP o sin antecedentes de prostatitis (controles)
- Mexicanos por nacimiento, en caso de ascendencia extranjera, con un mínimo de tres generaciones después del mestizaje
- No emparentados
- Que acepten participar en el estudio
- Que sean atendidos en el Hospital General de Zona 1 Tepic

Criterios de exclusión

- Menores de 45 años
- Extranjeros, o con un mestizaje menor a tres generaciones
- Que no acepten participar en el estudio

Criterios de no inclusión

- Muestra insuficiente
- Muestras contaminadas
- Expediente clínico incompleto

Metodología

Extracción de gDNA

Mediante una muestra de sangre periférica se realizó la extracción del gDNA mediante el kit DNAEasy (Invitrogen). Donde, primeramente, se homogenizaba la muestra para después pipetear 350 µl de la muestra sanguínea en un tubo de microcentrífuga. Se añadieron 500 µl de solución A al tubo se mezclaba suavemente con las manos y se dejaba incubando por 6 minutos a 65°C. Pasado ese tiempo se quitaba la muestra del bloque de calor y se a mezclaba suavemente con las manos Se añadieron 900 microlitros de cloroformo y se agitaba vigorosamente en el Vortex 2. Asegurando que la muestra se mezclara completamente. Ahora, se añadían 200 µl de solución B y agitaba brevemente en el Vortex 2. Se procedía a centrifugar la muestra a máxima velocidad en la microcentrífuga durante 10 minutos a temperatura de 4°C. Se pipeteaba la fase clara acuosa a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. donde se añadían 800 µl de etanol al 100% a temperatura ambiente y mezclaba por inversión hasta que se formara un precipitado, se volvía a centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 6 minutos a temperatura de 4°C. Se decantaba el sobrenadante y añadía 1 ml de etanol 70 % y centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 2 minutos a 4°C para decantar el sobrenadante y volver a centrifugar a máxima velocidad en una microcentrífuga durante 1 minuto a 4 °C. Se eliminaba el etanol residual con una pipeta e invertir los tubos para secar. Después, se añadían 100 o 40 µl de Buffer T dependiendo de las características de la muestra y el volumen después se mezclaba con una pipeta y centrifugaba de forma rápida a menos 4° C por 1 minuto, para posteriormente incubar a 65 ° C durante 8 minutos y, por último, ejecutar gDNA en un gel de agarosa para comprobar el tamaño y

el rendimiento y mediante espectrofotometría en el equipo Epoch™ cuantificar su pureza y cantidad presente de gDNA.

Genotipificación

La genotipificación se llevó a cabo utilizando el sistema de sondas TaqMan 5' de Applied-Biosystem mediante qPCR. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen total de 15 µl, con una concentración de gDNA de 100 ng/µL. Dichas reacciones se iniciaron a 60°C durante 30 segundos, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 10 minutos y 15 segundos con extensión final de 60°C durante 1 minuto y 30 segundos. Posteriormente, se analizaron con el programa StrepOne™ Software v2.3. Durante dichas reacciones cada sonda MGB TaqMan® hibrida de manera específica con su secuencia complementaria entre los emplazamientos de ambos cebadores, al igual que lo hacen los cebadores. Después la enzima AmpliTaq Gold® DNA Polymerase extiende la hebra a partir de los cebadores hibridados sobre el molde de DNA genómico y rompiendo las sondas que se han hibridado con su secuencia diana separando físicamente los fluorocromos del apantallador, lo que aumenta la fluorescencia de éste. Dicha fluorescencia es medida por el equipo y, posteriormente, reportada mediante un Plot de discriminación alélica (Figura 1).

Resultados

Hasta el momento, se han recolectado 674 muestras de sangre periférica (casos y controles) de las cuales se ha extraído el gDNA a 214. De estas 214 muestras, mediante PCR en tiempo real, se ha identificado que el 62.92% de los pacientes son homocigotos para el alelo G, el 7.86% para el alelo A y el 29.21% son heterocigotos (G/A) para dicho polimorfismo.

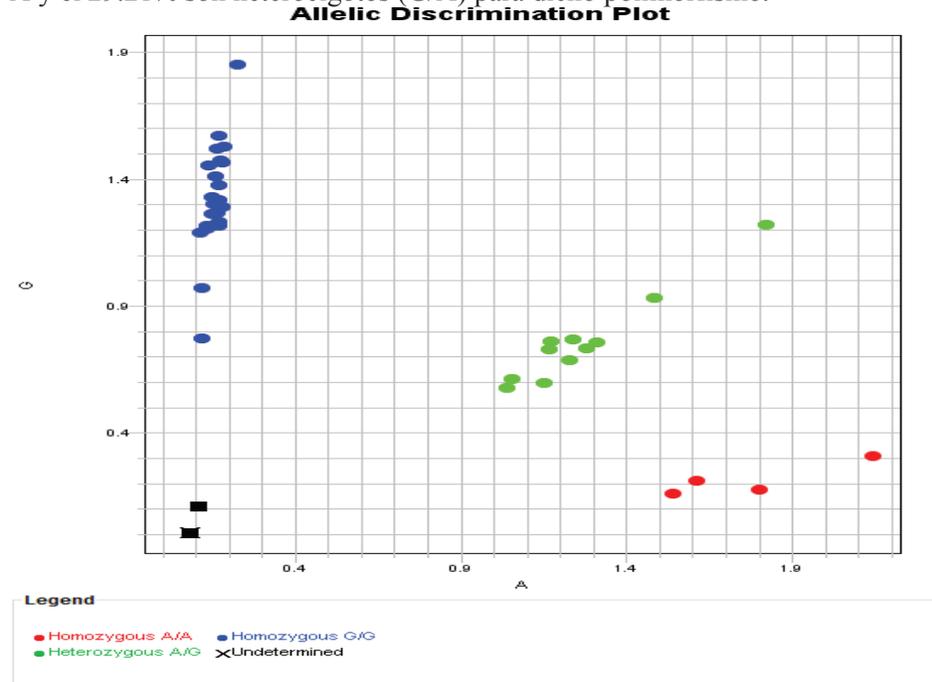
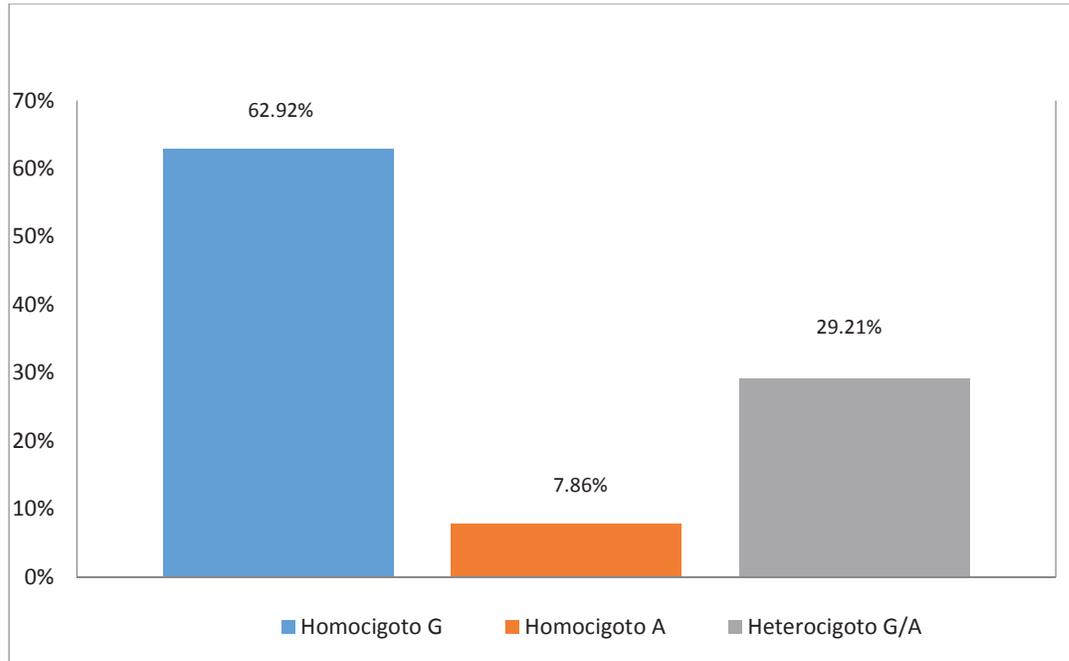


Figura 1. Plot de discriminación alélica del SNP -1154 G>A con rs1570360. A lo largo del eje horizontal se agrupan las muestras positivas para el alelo A (puntos color rojo), en el eje vertical se observan las muestras positivas para el alelo G (puntos color azul), y de forma diagonal se agrupan las muestras heterocigotas A/G (puntos color verde). Todo ello de acuerdo a la intensidad de fluorescencia que presentaron.



Grafica 1. Porcentaje alélico del SNP -1154 G>A de los resultados obtenidos hasta el momento.

Discusión

El presente trabajo aún no ha concluido y es por ello que no se puede establecer relación de la presencia y/o severidad del CaP con el SNP -1154 G>A. No obstante, de acuerdo a lo reportado en los estudios epidemiológicos consultados en conjunto con el porcentaje actual de la presencia de cada uno de los alelos de dicho polimorfismo se puede ir apreciando una ligera idea acerca de cuál de ellos sería un posible marcador del desarrollo del CaP en la población mestizo-mexicana del occidente del país.

La siguiente etapa del estudio involucrará el análisis de los resultados con la ley del equilibrio de Hardy-Weinberg y la junto a la realización de la separación entre los porcentajes de los casos y los controles, así como las comparaciones mediante la prueba de X^2 donde se determinarán los odds ratio y los índices de confianza (con 95% de certeza). Todo ello con la finalidad de determinar cuál de los alelos puede ser el marcador determinante para el CaP.

Conclusión

Con los resultados obtenidos hasta el momento se puede sospechar que el SNP -1154 G>A presenta un interesante y muy parecido a lo encontrado en la bibliografía. Por tanto, se sospecha que dicho polimorfismo puede ser un posible marcador para la detección temprana de CaP.

Agradecimientos

Al Honorable consejo técnico del programa (DELFIN), por permitido, realizar el verano de investigación, en la ciudad de Tepic Nayarit.

Al Dr. José Navarro Partida por su ayuda en la realización de las actividades del laboratorio de Investigación Biomédica, así como a los estudiantes a su cargo por el apoyo brindado a esta estancia de investigación.

Al estudiante de medicina Gerardo Ramos Palacios y a la Tesista Xavi Elen Casillas Rangel por su apoyo y enseñanzas brindadas durante toda la estancia de investigación.

Al rector de UAGro por alentar a los estudiantes a la investigación científica.

Y un agradecimiento especial a la Dra. Abril Martínez Rizo, por brindar su apoyo como asesor durante este verano de investigación científica.

Referencias

Yong S., Kwon H., Kim S., Lee S., Lee J., Hwang J., Hong S., Graves C., Camphausen K., Kim J. and Lee Y. (2013). "The relationship of Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and clinical outcome in advanced gastric cancer patients treated with FOLFOX: VEGF polymorphism in gastric cancer". *BioMed Central* 13:43

Jain L., Vargo C., Danesi R, Sissung T, Price D, Venzon D, Venitz J, and Figg W. (2009). "The Role of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) SNPs as Predictive and Prognostic Markers for Major Solid Tumors". *Mol Cancer Ther* 8(9)

INEGI (2012). "Estadísticas a propósito de día mundial contra el cáncer". Datos de Nayarit.

Liu Q., Li Y., Zhao J., Sun D., Duan2 Y., Wang N., Zhou R. and Kang S. (2009). "Association of polymorphisms 21154G/A and 22578C/A in the vascular endothelial growth factor gene with decreased risk of endometriosis in Chinese women". *Human Reproduction* 24(10).

Vidaurreta M., Sánchez-Muñoz R., Veganzones S, Rafael S., Gutiérrez M., de la Orden V., Fernández C., Arroyo M., Cerdán F. y Maestro M. (2010). "Polimorfismos del gen del factor de crecimiento vascular endotelial en pacientes con cáncer colorrectal". *ESP ENFERM DIG* 102(1).



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Regulación de los transportadores Gliales de Glutamina

Merary Guadalupe Parra Vargas (Becario Programa Delfín)

merary_pekepisves@hotmail.es

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero.

Dr. Arturo Ortega Soto (Asesor)

aortega@cinvestav.mx

Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional

Resumen

La glutamina (Gln) es el aminoácido más abundante en el plasma sanguíneo. En el sistema nervioso central (SNC), la Gln es precursora del glutamato (Glu) y GABA, principales neurotransmisores, excitador e inhibidor, respectivamente. El ciclo Glu/Gln describe la relación que existe entre las terminales sinápticas glutamatérgicas y las células gliales circundantes: los transportadores gliales de Glu retiran la mayor parte de éste de la hendidura sináptica, la glutamina sintetasa lo transforma a Gln, misma que al acumularse es transportada junto con el ion sodio, según a sus gradientes de concentración, hacia el exterior de las células gliales. En el espacio extrasináptico la Gln es capturada por las neuronas y reconvertida a Glu. Los transportadores de Gln son elementos importantes para el reciclaje del glutamato en el SNC. El sistema N de transporte de Gln es característico en las células gliales e incluye a las proteínas SNAT3 y SNAT5, las cuales presentan sitios consenso de fosforilación por PKA, por lo cual se sugiere una regulación directa o indirecta de esta cinasa en la expresión membranar o total de los transportadores (activación de la expresión génica). Mediante inmunodetección en fase sólida se midió la cantidad relativa de los transportadores de glutamina SNAT3 y SNAT5 en la línea celular C6, de glioblastoma de rata. El agente usado para activar a la cinasa PKA es el análogo sintético de AMPcíclico: dbcAMP, el cual es permeable a la membrana celular y fue aplicado a 1 y 3 horas de estímulo. En el presente trabajo se determinó que la activación de la cinasa PKA produce modificaciones en la expresión global de los transportadores SNAT3 y SNAT5 en la línea celular de glioblastoma de rata C6.

Palabras clave: SNAT3, SNAT5, glutamina, glutamato, células gliales

Introducción

El cerebro de los mamíferos está constituido principalmente por dos clases de células: las neuronas y las células gliales; consideradas tradicionalmente como células de soporte, las células gliales constituyen la inmensa mayoría de las células cerebrales al superar en número a las neuronas por un factor de diez. Poco se conoce de su participación en la fisiología cerebral, a pesar de su ubicación privilegiada, envolviendo las sinapsis. (Escher López-Bayghen, 2010). Las células gliales se clasifican principalmente en tres categorías: los oligodendrocitos y las células de Schwann que forman la mielina, una membrana que sirve de barrera de aislamiento y que se encuentra involucrada en la conducción del impulso nervioso del sistema nervioso central y periférico, respectivamente; la microglia, formada por células que responden a un daño o enfermedad en el cerebro, activando una respuesta inflamatoria y fagocitando las bridas celulares o detritus, por último los astrocitos que se caracterizan por tener una forma estrellada. Los astrocitos están estrechamente vinculados con las neuronas en procesos como: la recaptura de neurotransmisores liberados durante la transmisión sináptica, el mantenimiento de la concentración de K⁺ y del pH, la transferencia de sustratos

metabólicos y la liberación de factores tróficos que promueven el crecimiento, maduración y reparación de las células nerviosas. (Octacio García, 2004)

La línea celular C6 es un tipo de glioblastoma de corteza de cerebro de rata, que fue inducido por N-nitrosometilurea. Al igual que muchas células del sistema nervioso central, expresa marcadores moleculares como S-100 y glutamina sintetasa. Por lo tanto el fenotipo característico de estas células es de tipo glial y su transporte de glutamina es abundantemente conocido. Al rededor del 30% de su captura de Gln es a través de los transportadores SNAT3 y SNAT5 del sistema N. El sistema N de captura de glutamina es un antiporte activo secundario, es decir co-transporta iones a favor de la concentración de sus gradientes electroquímicos. Además de la glutamina y en la misma dirección se mueve un ion sodio, mientras que en dirección opuesta se transporta un protón. La gran homología de secuencia entre estas proteínas y las de origen humano facilitan el estudio de los mecanismos de regulación de estos transportadores en modelos heterólogos como las líneas celulares. La fosforilación directa sobre los transportadores o receptores en la membrana repercute en la distribución sub-celular y funcionamiento de los mismos; siendo que la fosforilación comúnmente se ha encontrado relacionada a la desensibilización y reciclamiento de los transportadores. Sin embargo a plazos más largos es probable una regulación en la tasa de traducción o transcripción de los genes.

Las proteínas SNAT3 y SNAT5 tienen sitios factibles de ser fosforilados por cinasas como PKA y PKC. La proteína cinasa PKA es un sensor del nivel energético de la célula, ya que la proporción de cAMP-ADP respecto el ATP modulan la activación de la misma y el encendido de las cascadas de señalización río abajo. Las células altamente proliferativas con linaje ripo tumoral, como las células C6, sufren cambios metabólicos que elevan el consumo energético y por tanto la cantidad de ATP puede ser fácilmente disminuida y en consecuencia la PKA más activa. Uno de los abordajes más simples de valorar la participación de esta ruta es usando análogos sintéticos de cAMP para activarla o aún más arriba, mediante el uso de activadores de la enzima adenilato ciclasa (como forskolina) puede inducirse artificialmente la actividad de PKA. En el presente trabajo se analizó la posible regulación de PKA sobre la expresión de estos transportadores.

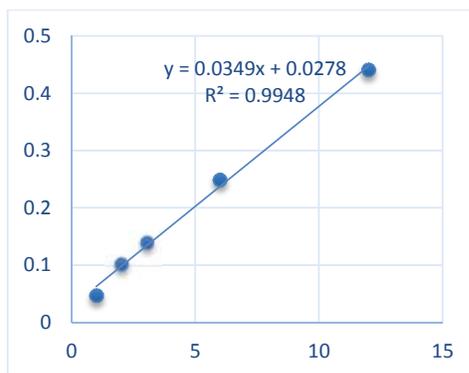
Metodología

Para llevar a cabo este experimento, se utilizaron células C6 de cerebro de rata, mismas que fueron suprimidas primeramente con solución de ensayo y posteriormente con PBS con inhibidores.

Estímulo con cAMP y Forskolina; estas células fueron estimuladas con Fsk y AMPdbc en unos tiempos de 1 y 3 horas. *Cosechado de células;* primeramente, se observan al microscopio la densidad y homogeneidad de las células. Se descarta el medio de cultivo y se realiza un lavado colocando 1mL de PBS por pozo (Ø 35 mm). Se procede a raspar los pozos con un cosechador usando PBS con inhibidores de proteasas y fosfatasas, dejando a las células en suspensión. Posterior a esto, se recoge la suspensión de células y se coloca en tubos Eppendorf. Dichos tubos, son llevados a centrifugación a 13,000 rpm durante 5 minutos a una temperatura de 4°C. Retirar el sobrenadante, evitando disgregar el pellet. Congelar o proceder a la lisis celular mecánica.

Lisado de células: extracto total; preparar solución de lisis (RIPA, 0.5% deoxicolato de sodio, 0.5% NP-40, 1 mM PMSF, 1µg/µl de aprotinina, 1µg/µl de leupeptina). De esta solución, se agrega de 3 a 5 veces, el volumen aproximado que ocupa el pellet, con la solución. Se disgrega el pellet pipeteando de 2 a 3 veces. También se puede usar vórtex. Estos tubos con muestras se llevan al sonicador durante 40 minutos en agua fría. Posteriormente se centrifugan estas suspensiones a 13,000 rpm durante 5 minutos a una temperatura de 4°C para separar los residuos celulares no solubilizados. Colectar el sobrenadante obtenido y transferir a un tubo nuevo, ya que este será el extracto celular. El pellet es descartado.

Determinación de proteínas; para llevar a cabo la determinación de proteínas, es necesario identificar el factor de dilución para la muestra del extracto, para esto, se realiza una curva de concentraciones de la proteína estándar (γ-globulina) con las concentraciones de 1, 2, 3, 6 y 12 µg/µl. Se coloca por duplicado 20 µl de cada punto de la curva. En los pozos siguientes, y se agrega por duplicado 20 µL de la dilución del extracto. A estos pozos se les adiciona 180 µL del reactivo de Bradford y esta placa se lee con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 630 nm. Los resultados, son graficados en una gráfica de dispersión, se realiza una regresión lineal, despejando y calculando el valor de X ([]) mediante la ecuación de la curva. Se debe procurar el mejor ajuste lineal con el valor de la correlación de Pearson (R²) más próximo a 0.99. Con los datos obtenidos, se procede a elaborar una tabla para definir la preparación de las muestras para la electroforesis.



Gráfica 1. Análisis de dispersión

Tabla 1: Volúmenes de muestra necesarios

Muestra	Abs 1	Abs 2	Prom	$x=(y-m)/b$	Factor de dil.	Vol. muestra	SB 6x	Vol final	Prot total	[] final	Vol. Sol. Lisis
NS 3h	0.172	0.17	0.171	4.1	6.2	32.5	11.2	67	200	3.0	23
0.25 µL dbcAMP 3h	0.124	0.171	0.1475	3.4	5.1	38.9	11.2	67	200	3.0	17
0.50 µL dbcAMP 3h	0.191	0.193	0.192	4.7	7.1	28.3	11.2	67	200	3.0	27
10 µL FSK 3h	0.206	0.204	0.205	5.1	7.6	26.3	11.2	67	200	3.0	30
50µL FSK 3h	0.204	0.237	0.2205	5.5	8.3	24.1	11.2	67	200	3.0	32
NS 1h	0.172	0.192	0.182	4.4	6.6	30.2	11.2	67	200	3.0	26
0.25 µL dbcAMP 1h	0.295	0.28	0.2875	7.4	11.2	17.9	11.2	67	200	3.0	38
0.50 µL dbcAMP 1h	0.211	0.187	0.199	4.9	7.4	27.2	11.2	67	200	3.0	29
10 µL FSK 1h	0.233	0.252	0.2425	6.2	9.2	21.7	11.2	67	200	3.0	34
50 µL FSK 1h	0.325	0.245	0.285	7.4	11.1	18.1	11.2	67	200	3.0	38

Electroforesis SDS-PAGE; es necesario realizar un gel de policrilamida al 8% para esto se preparan 7.5 mL del gel de resolución (para 1.5 mm de espesor) e ir vaciando con ayuda de una pipeta de 1 mL sobre el molde de vidrios. Se espera alrededor de 10 minutos para que el gel polimerice. Así mismo, se prepara un gel concentrador al 5 %, donde serán formados los pozos para cargar la muestra. Una vez polimerizado el gel, se retira del molde y se coloca en la cámara interna (electrodos) de la cubeta de electroforesis. Con ayuda de una jeringa Hamilton, se depositan en cada uno de los pocillos las concentraciones de proteínas correspondientes para: 5, 15 y 30 µg de proteínas, primero de células suprimidas una hora en “assay buffer” y luego de células no suprimidas, Esta secuencia será repetida dos veces en el gel. Se deja aproximadamente 45 minutos con 80 →150 mV, aproximadamente 40 mA, para que las proteínas corran y se separen las bandas de acuerdo a su peso molecular. Una vez terminada la corrida, se retira el gel.

Transferencia; las proteínas cargadas, fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa, en una corrida de transferencia a 350 mA por 90 minutos. Después de realizar la transferencia, dicha membrana se tiñe con rojo de Ponceau. Se realiza un bloqueo a las membranas, durante 2 horas con 5% de leche descremada con TBS-T

Incubación de anticuerpo; una vez bloqueadas las membranas, estas son incubadas con el anticuerpo primario (SNAT 3 (1:1000, v/v), SNAT 5 (1:1000, v/v) aproximadamente durante 12 horas ± a 4° C. Pasado el tiempo de incubación primaria, se lavan las membranas en agitación. Una serie de 3 lavados con intervalos de 5 minutos cada uno, con TBS-T. Posteriormente se incuba el anticuerpo secundario 2 horas a temperatura ambiente (α -SNAT 3 → α -Rabbit (1:4000)) (α -SNAT 5 → α -Goat (1:4000)). Las membranas se vuelven a lavar con TBS-T al 0.1%.

Revelado; para revelar la membrana, ésta se coloca entre un par de acetatos, y se añaden 200 µL de luminol (ECL) entre los marcadores de peso molecular: 66-45 kDa. Se introduce el acetato con la membrana a la cámara del fotodocumentador y se comienza el revelado, haciendo una lectura de 5 imágenes cada 6 minutos.

Resultados

Extractos totales obtenidos con RIPA+ 0.5% NaDeox, 0.5% NP-40, electroforesis: 50 µg de proteínas, 8% SDS-PAGE, transferencia: 100 min, 350 mA, bloqueo: 2 h, 5 % leche descremada en TBST, anticuerpos primarios: 1:500 en 0.5% BSA, TBST, anticuerpos secundarios: 1:4000 en TBST, tinción de rojo de Ponceau. Ver las figuras

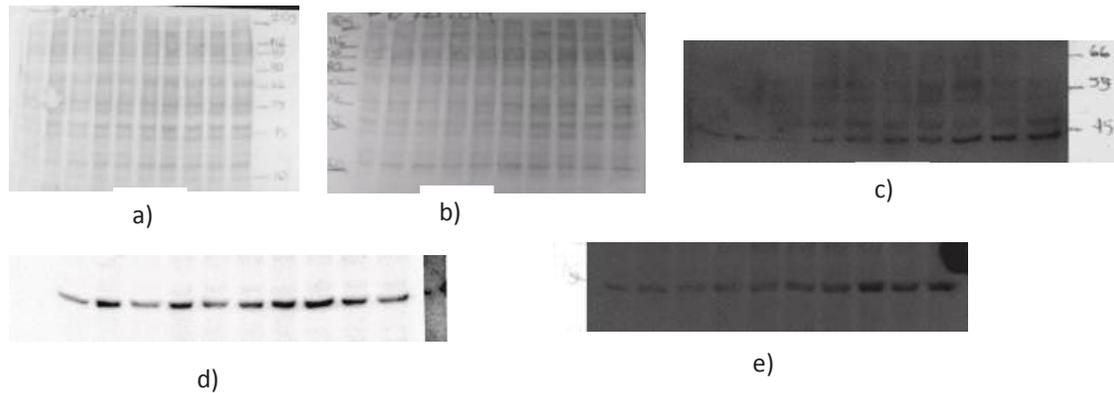


Figura 1: Tinción rojo de Ponceau a) SNAT 5, b) SNAT 3, c) banda SNAT 5, d) Inmunodetección de beta-actina para la membrana de SNAT5, e) SNAT3.

Tabla 2. Análisis normalizado de la densitometría de píxeles para cada proteína

	SNAT5	SNAT3	actin_5	actin_3	SNAT5/act in	SNAT3/act in	SNAT5% Ctl	SNAT3 % Ctl
3h_NS	311	2206	3887	2110	0.1	1.0	100	100
3h_0.25 dbcAMP	2115	4481	9022	3550	0.2	1.3	293	121
3h_0.5 dbcAMP	706	2265	4110	2797	0.2	0.8	215	77
3h_10 uM Fsk	1103	483	7872	3605	0.1	0.1	175	13
3h_50 uM Fsk	1979	1801	5675	4196	0.3	0.4	436	41
1h_NS	1523	4200	6805	4548	0.2	0.9	100	100
1h_0.25 dbcAMP	4748	1248	9835	6210	0.5	0.2	216	22
1h_0.5 dbcAMP	4767	2281	13038	9045	0.4	0.3	163	27
1h_10 uM Fsk	3178	2006	8938	6045	0.4	0.3	159	36
1h_50 uM Fsk	2763	1633	8605	5856	0.3	0.3	144	30

Discusión y conclusiones

Trabajos recientes han descrito la regulación rápida de SNAT3 mediante la fosforilación por PKC, sin embargo no se ha detallado el papel de PKA en la regulación a corto plazo de tal transportador y menos aún de los dos transportadores del sistema N. En investigaciones previas del grupo de trabajo se ha encontrado que cAMP y forskolina promueven un aumento en la captura de glutamina tritiada (datos no publicados), lo cual concuerda con los resultados obtenidos. Los cuales apuntan hacia una participación de PKA en la regulación de SNAT5 a los dos tiempos y de

SNAT3 solo a la primera hora del tratamiento. Sin embargo es necesario describir si aumenta la cantidad de transportadores en la membrana plasmática. Los mecanismos moleculares básicos, como el transporte de aminoácidos son altamente conservados, por lo que los hallazgos aquí descritos, pese a ser tendencias, tienen potencial de ser corroborados en otras líneas celulares o modelos in vivo.

Agradecimientos

Quiero agradecer, principalmente al Programa Delfin por darme la oportunidad de participar en el XIX Verano de Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico 2014. De igual forma, al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN por abrirme sus puertas y permitir realizara mi estancia en esta institución. Agradezco también, al Dr. Arturo Ortega Soto, por la oportunidad de trabajar en su laboratorio, así como también por los conocimientos compartidos para conmigo. Gracias al equipo de trabajo del laboratorio 31 del departamento de toxicología, especialmente a la M.C. Luisa Clara Hernández Kelly por sus consejos y correcciones precisas. Igualmente, hago un agradecimiento especial para mi asesora la M. C. Orquidia Guadalupe Méndez-Flores por su disponibilidad para trabajar, por su paciencia, por brindarme su amistad y por compartir tantos conocimientos conmigo.

Referencias

- Esrher López-Bayghen, A. O.** (2010). Celulas gliales y Actividad sináptica: el control traduccional del acople metabólico. *Revista de Neurología*, 607-615.
- Octacio García, L. M.** (2004). Interacción entre las células gliales y neuronales y su papel en la muerte y sobrevivencia neuronal. Obtenido de SciELO: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-47052004000100008&lng=es&nrm=iso>



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Sarcoma fusocelular

Amairani Gatica Lozano, Nohemí Gatica Lozano (Becarios del programa Delfín)

amirani_109@hotmail.com, nohemi_fulanita@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería No. 2. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Javier Enrique López Aguilar (Asesor)

Unidad Médica de Alta Especialidad, Centro Médico Nacional Siglo XXI

Oncología Pediátrica, “Dr. Silvestre Frenk Freud”

Resumen

Desde tiempos remotos el cáncer ha sido una enfermedad multifactorial de aspectos sumamente importantes. El cáncer infantil se ubica entre las principales causas de morbi-mortalidad a nivel mundial, los principales factores pre disponibles para que se pueda presentar cualquier tipo de cáncer son los factores genéticos, ambientalistas, o también son de tipo esporádicos en algunos casos. El sarcoma es un tipo de cáncer de origen mesenquimal, que se origina en ciertos tejidos como los huesos o los músculos, estos corresponden a tumores pediátricos, en los cuales existen cambios genéticos más frecuentes, translocaciones cromosómicas que generan genes híbridos (genes de fusión). Se pueden originar en tejidos blandos, como los tejidos adiposos, musculosos, nerviosos y fibrosos, así como en los vasos sanguíneos y los tejidos profundos de la piel. Se pueden encontrar en cualquier parte del cuerpo. La mayoría de ellos se desarrolla en los brazos o las piernas. Además, se pueden encontrar en el tronco, la cabeza y el área del cuello, los órganos internos y el área trasera de la cavidad abdominal (conocida como retroperitoneo). El presente estudio tiene como propósito el abordaje principal del sarcoma y los tipos de cánceres en la edad pediátrica, así como también sus diversos factores pre disponibles, de los cuales son multidisciplinarios en distintos aspectos en los que se presente todo tipo de sarcoma.

Palabras clave: Cáncer infantil, sarcoma, genética, VIM, p53.

Introducción

El cáncer es una enfermedad crónica, de naturaleza multifactorial, que se genera de cambios genéticos y epigenéticos. Este causado por la acumulación de mutaciones genéticas o cromosómicas, las cuales pueden ocurrir en células somáticas (cáncer esporádico), o en células de la línea germinal (síndrome de cáncer hereditario). Las mutaciones son causadas por tres clases de genes que son: los proto oncogenes, genes supresores de tumores y los reparadores del DNA. Los factores etiológicos aun no se conocen del todo, sin embargo se consideran por un lado los exógenos, como el estilo de vida, cancerígenos ambientales, infecciones o radiación y por otro los endógenos, como alteraciones genéticas y epigenéticas en las que participan uno o más oncogenes, genes supresores de tumores o genes que codifican para microRNA. El sarcoma de partes blandas de la infancia son un grupo heterogéneo de enfermedades malignas que se originan a partir del tejido mesenquimal primitivo y que pueden desarrollarse en cualquier localización del cuerpo. Las células mesenquimales pluripotenciales se comprometen y diferencian hacia

líneas celulares normales, dando lugar a tejidos bien diferenciados, como son el musculo esquelético y el liso, grasa, tejido fibroso, hueso y cartilago. La media de edad en el momento del diagnóstico de estos tumores en la infancia es de 12 años. Se han descrito factores genéticos y ambientales relacionados con el desarrollo de SPB en los niños. Es bien conocida la predisposición a desarrollar sarcomas de partes blandas en pacientes afectos del síndrome de Li-Fraumeni. Se ha relacionada con la pérdida de heterocigocidad que determina una alteración en el gen supresor p53 y facilidad para desarrollar Sarcomas de Partes Blandas.

Los sarcomas en edad pediátrica se clasifican de acuerdo con el tejido celular de origen la International Classification of Childhood Cancer divide los SPB en cinco sub categorías: a) Rabdiomiosarcoma (incluye embrionario y alveolar); b) Fibrosarcoma (tumores malignos fibromatosos y tumores de vaina del nervio periférico); c) Sarcoma de kaposi; d) Otros sarcomas específicos, entre los que incluye el sarcoma sinovial, tumores malignos de vasos sanguíneos, miomatosos, lipomatosos,; e) sarcomas inespecíficos. Los tipos histológicos más frecuentes son el sarcoma sinovial (42%), el fibrosarcoma (13%), el fibrohistioma maligno (12%) y los tumores neurogénicos (10%). Los estudios de genética molecular son útiles para el diagnóstico, ya que varios de estos tumores tienen translocaciones cromosómicas características. La finalidad de este trabajo es presentar un caso clínico de un paciente quién desarrolla un sarcoma fusocelular en región glenohumeral derecha.

Presentación de caso clínico: Niño de 11 años de edad, quirúrgicos positivos para toma de biopsia de tumor glenohumeral, sin resección de lesión, por lo que es intervenido nuevamente para recesión y biopsia de la lesión. Transfusionales negados hospitalizaciones previas negadas. Inicia un año con aumento de volumen a nivel de región de hombros posterior por lo que acude a su médico familiar quién tres meses después envía a pediatría y posteriormente a cirugía pediátrica hasta noviembre, realizando un USG el cual reporta masa sólida en región axilar posterior derecha, probable lipoma por lo que se decide intervención quirúrgica en noviembre del para recesión de lesión, sin ser exitosa, persistiendo con aumento de volumen y dolor local, que limitaba sus movimientos así como fiebre a la manipulación, por lo que se realiza nuevamente intervención quirúrgica para recesión de lesión al 100% enviando muestra para patología y reportando cómo neoplasia maligna fuso celular de alto grado que infiltra a tejidos blandos compatible con fibrosarcoma.

Metodología

Se realiza estudio de paciente masculino pediátrico, Inicia intervención en noviembre realizando ultrasonografía(USG) que reporta masa sólida en región axilar posterior derecha, probable lipoma por lo que se decide intervención quirúrgica para resección de lesión, sin ser exitosa persistiendo aumento de volumen y dolor local por lo que se realiza nueva intervención quirúrgica para resección de lesión al 100% y es enviada la muestra a patología para análisis, reportando como sarcoma fusocelular de alto grado que infiltra a tejidos blandos compatible con fibrosarcoma.

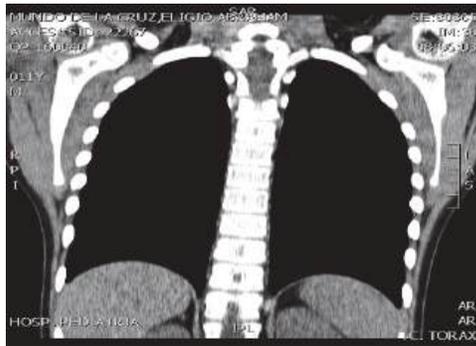
Resultados

Los resultados se muestran en la tabla 1, y en las siguientes figuras; a) Tomografía tórax: diagnóstico sarcoma fusocelular, b y d) TC de tórax ambas sin metástasis pulmonar.

Tabla 1. Tratamiento quimioterapéutico



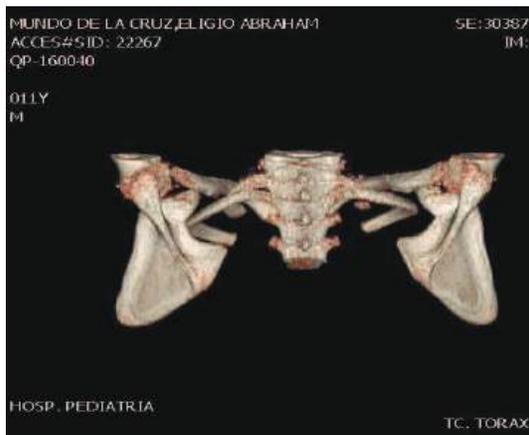
<i>Tratamiento quimioterapéutico</i>
VAC (Vincristina, Actinomicina, Ciclofosfamida)
VIP (Vincristina, Ifosfamida, Platino=
VACE:



b)



c)



d)

Discusión

En el conocimiento de los sarcomas, su tratamiento es con un manejo multidisciplinario en el cual incorporan diferentes estrategias terapéuticas e individualizando los casos según sea el estirpe histológico del sarcoma, en el que deben observar la localización, el grado de estadio, la edad del paciente y el comportamiento biológico de la misma de donde se derivan las translocaciones cromosómicas y de igual manera el p53 es alterado por diversos factores genéticos, así mismo es alterado el marcador VIM y este conlleva al diagnóstico de un sarcoma de termino específico. la sobrevivencia deriva del diagnóstico correcto del tipo de enfermedad y su grado de extensión, junto al empleo juicioso de las terapéuticas más apropiadas que deben llevarse a cabo implementando diversos tratamientos, por lo cual en estos diagnósticos hace referencia las translocaciones cromosómicas, así mismo del marcador VIM y el p53 “guardián del genoma” el cual es alterado por factores genéticos, por ende de esto conlleva a diversos tipos de canceres en edad pediátrica.

Agradecimientos

Los más sinceros agradecimientos al programa Verano Delfin, por el apoyo otorgado y a la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro) de igual manera a la institución educativa Unidad Académica de Enfermería no. 2 , y al Dr. Investigador Jefe del servicio de oncología pediátrica el Dr. Javier Enrique López Aguilar y sus colaboradores.

Referencias

- Kelly KM, Womer RB, Sorensen PH *et al.***: Common and variant gene fusions predict distinct clinical phenotypes in rhabdomyosarcoma, J ClinOncol.
- Lanzkowsky P.** (2006). Manual Of pediatric Hematology and Oncology. 4ed.
- Leaphart C, Rodeberg D:** pediatric surgical oncology: management of rhabdomyosarcoma. SurgOncol 16
- Malkin D, Li FP et al.** Germ line p53 metations in familial síndrome of breast cáncer, sarcoma, and other neoplasms. Science 250(4985):
- Meyer WH, Spunt SL.** (2004). Softtissue sarcoma of childhood. CancerTreatRev
- P.apo** (2006). PediatricBone and SoftTissue Sarcoma.
- Spunt SL, Poquette CA, Hurt YS, *et al.*** (1999). Pronostic for children and adolescents wits surgically resected nonhadomyosarcoma soft tissue sarcoma: an analysis of 121 patients treated at st. judechildrens Research Hospital. J clin Oncol.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Tumor retroperitoneal derivado del síndrome de Alagille

Lilia Yuridia Lorenzo Moran, Lizeth Ivonne Villegas Porcayo (Becarios del Programa Delfín)

lilia_01_10@hotmail.com, lizeth_ivonne@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería No. 2. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Javier Enrique López Aguilar (Asesor)

onco_lab@yahoo.com.mx

Instituto Mexicano de Seguro Social C.M.N Siglo XXI Hospital de Pediatría Silvestre Frenk-Freud.

Resumen

Se presenta el caso de un paciente femenino de 15 años de edad con diagnóstico de Tumor Retroperitoneal derivado del Síndrome de Alagille. Presenta dolor en hipocondrio derecho, y en el hospital de Tapachula le realizan una Tomografía Axial Computarizada (TAC) de tórax, encontrando una tumoración en retroperitoneo. Motivo por el cual es ingresada al hospital de pediatría siglo XXI, se realizan estudios de laboratorio, se indica toma de biopsia para la extracción del tumor. Objetivo, es obtener la biopsia para determinar si se trata de un tumor benigno o maligno y así poder brindar un tratamiento específico para su patología. Métodos, TAC de tórax y estudios de laboratorio en varias ocasiones para observar el nivel de la bilirrubina, marcadores tumorales como son: La Proteína C Reactiva (PCR) y Alfafetoproteína (AFP). Enzimas importantes tales como la Gama Glutamil Transferasa (GGT) y Deshidrogenasa Láctica (DHL), se hizo una valoración por cardiología y gastroenterología finalmente se revisó el expediente clínico y se continuó con la toma de biopsia a cielo abierto. Resultados, al realizar el corte de la biopsia se apreció el hígado con datos de cirrosis y necrosis. El servicio de patología informó los resultados de la misma encontrando: pared de tejido fibroconectivo y células de extirpe inflamatorio por lo cual indica una tumoración no neoplásica, motivo de egreso por el servicio de oncología. Conclusión, de acuerdo a la cirugía realizada, no fue posible extraer el tumor en su totalidad, debido a que estaba situado entre el duodeno y lóbulo caudado, esto implica una problemática para los pacientes que atraviesan con este tipo de tumor, ya que en ocasiones no se puede extraer porque ponen en riesgo su sobrevivencia.

Palabras clave: Síndrome de Alagille, marcadores tumorales, biopsia, TAC.

Introducción

El cáncer en los niños de México es en la actualidad uno de los problemas más importantes de salud pública, la tasa de incidencia del cáncer en edad pediátrica es el orden de 136 casos por millón por año, con lo que ocupa el segundo lugar como causa de morbilidad en la población pediátrica. Los Tumores Retroperitoneales hoy en día presentan entre 0.3 y 0.8% de todas las neoplasias, por lo que son muy poco frecuentes. Existen varios tipos de tumores ya sean benignos o malignos y las manifestaciones clínicas dependen de la localización del mismo. Generalmente

aparecen cuando la enfermedad se haya desplazado a otras áreas; los estudios para diagnosticarlos son de laboratorio, (TAC), resonancia magnética o biopsia. Además del tumor retroperitoneal existe un antecedente importante que es factor principal del tumor, se trata del Síndrome de Alagille (ALGS). Se le conoce así a la colestasis intrahepática crónica, por hipoplasia de las vías biliares intrahepáticas, se asocia a malformaciones congénitas extrahepáticas en niños con un fenotipo peculiar; es un trastorno autosómico dominante de expresión variable en el que está implicado el cromosoma 20 p12: donde se localiza en Gen Jagged 1, lo que hace que funcione como ligamento para receptores críticos en el proceso de desarrollo fetal: interviniendo en migración, diferenciación celular y organogénesis del embrión. El síndrome presenta anomalías hepáticas, esqueléticas, renales, oculares y faciales, la colestasis se debe a la escasez de conductos hepáticos, pero tiene también alteraciones renales y cardiovasculares y algunos presentan retraso mental moderado. Los infantes con ALGS pueden mostrar ictericia, deposiciones pálidas, retardo en el crecimiento, o diarrea, y pueden tener problemas respiratorios, o pueden tener piel pálida o piel oscura (cuando el problema cardíaco es serio).

La mayoría de éstos pacientes muestran signos y síntomas de enfermedades hepáticas al momento de nacer o poco después. Generalmente ellos tienen un tipo de ojos y piel amarilla, llamada ictericia colestásica (color amarillento de la piel causada por una disminución del flujo biliar) en los primeros meses de vida. Algunos infantes nacen pequeños, y otros tienen problemas con el crecimiento y para subir de peso. El objetivo principal del presente estudio es conocer el grado de malignidad del tumor puesto que su ubicación está al nivel del retroperitoneo lo cual puede afectar a los demás órganos que se encuentran a su alrededor.

Presentación del Caso Clínico; Se trata de paciente femenino de 15 años de edad, que desde el nacimiento presentó ictericia, manejada con fototerapia sin mejoría, por lo que acude con un médico particular donde es manejada con vitaminas. Al año de edad es derivada al Instituto Nacional de Pediatría, se programa biopsia y se diagnostica Síndrome de Alagille, así mismo inicia manejo por parte de cardiología y se programa para corrección quirúrgica a los 3 años de edad, a los 5 años de edad se abandona el tratamiento. El día 3/07/15 es referida al Hospital de Pediatría Siglo XXI, presentando una TAC de tórax realizada en el Hospital de Tapachula, a su exploración física se le encuentra con datos de ictericia en escleróticas y tegumentos, abdomen blando no doloroso, hepatomegalia 2cm y vías respiratorias sin alteración.

Antecedentes Familiares; Madre de 33 años de edad unión libre, originaria de pentecostés, escolaridad secundaria, niega toxicomanías, hemotipo O positivo. Aparentemente sana. Padre de 37 años de edad, pentecostés escolaridad primaria, empleado, niega toxicomanías, hemotipo O positivo. Aparentemente sano. Tiene 2 hermanos unos de 6 años de edad y otro de 1 año 7 meses aparentemente sanos. Producto de la primera gestación, madre de 17 años, con control prenatal regular, se refiere embarazo normo-evolutivo. Obtenida por parto eutócico, a las 38 SDG, peso al nacer 2.800gr y talla no la recuerda. Posteriormente se realizan estudios de laboratorio y se inicia manejo con colestiramina, vitamina A, D, E, K y vitamina E por parte de gastroenterología. Se tendrá un seguimiento del caso dónde participara todo el equipo interdisciplinario.

Metodología

Se observó los estudios realizados en el Hospital de Tapachula TAC (figuras 1) y se encontró la presencia de una masa tumoral a nivel del retroperitoneo por consiguiente se empezó protocolo para saber si se trataba de una tumoración maligna o benigna en el que se indicó estudios de laboratorio y marcadores tumorales como son la alfafetoproteína (AFP) que puede ser útil para diagnosticar y guiar el tratamiento contra el cáncer de hígado. Los niveles normales de AFP generalmente son menores a 12ng/ml (nanogramos por mililitro) al igual que la Proteína C Reactiva que es producida por el hígado y su nivel se eleva cuando hay inflamación en todo el cuerpo, dentro de los exámenes de laboratorio se encontraron alteradas las enzimas gama glutamil transferasa (GGT) enzima que se encuentra principalmente en el hígado. La GGT se encuentra en las células del hígado, sus niveles se miden en casos de peligro de daño de las células hepáticas o enfermedad del hígado. También la deshidrogenasa láctica (DHL) enzima capaz de "acelerar" una reacción química y se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo. La DHL está principalmente involucrada en la producción de energía en las células, lo que explica su amplia distribución.

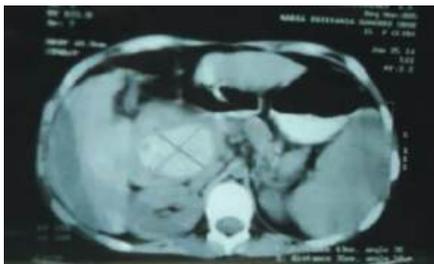


Figura 1. TAC donde se muestra la presencia de una masa tumoral a nivel del retroperitoneo

Después se continuó con una valoración de cardiología en el cual se diagnosticó estenosis de ramas pulmonares que es la estenosis de la arteria pulmonar es el estrechamiento (estenosis) que ocurre en la arteria pulmonar, una arteria grande que manda sangre poco oxigenada a los pulmones para que la enriquezcan con oxígeno. De acuerdo a estos resultados se recopiló valoración por gastroenterología la cual indicó la administración de vitaminas como son AUCD y E, ácido ursodeoxicólico y colestiramina. Al confirmar todas las valoraciones se procede a hacer la biopsia de cielo abierto y se envía muestra a patología (figura 1).

Resultados

Al ingreso de la paciente (3/07/14) se obtuvieron los siguientes resultados de laboratorio DHL 480 UI/L y una alta concentración de bilirrubina con 16.80 mg/dL, posteriormente el día 4/07/14 con los marcadores tumorales: proteína C reactiva de 53.02 mg/L y AFP 963.20 ng/mL, el día 7/07/14 gamma glutamil transferasa de 109.9 UI/L. Fue entonces el 14/07/14 que se procede con la cirugía programada, en la cual se coloca al paciente en posición supina, se realiza incisión tipo chevron, se secciona por planos hasta visualizar hígado se liga falciforme encontrando datos cirróticos, con nódulos de neoformación indurado, verdoso, ambos lóbulos y se encuentra, lesión entre duodeno y lóbulo caudado. Se toma la biopsia incidiendo la capsula, se encuentra inferior a ella tejido cerebroide con abundante necrosis y coágulos.

Discusión

Los tumores que están localizados en lugares sumamente comprometidos, son difíciles de extirpar, por lo tanto en ésta paciente era complicado porque cerca del lóbulo caudado se encuentra la vena cava inferior. Por otra parte existen pruebas que indican que el Síndrome de Alagille es de tipo hereditario; autosómica dominante con penetrancia variable. No obstante, muchos casos son esporádicos, lo que sugiere la presencia de mutaciones espontáneas. Además en varias investigaciones se ha encontrado que los pacientes con Síndrome de Alagille presentan una delección en el brazo corto del cromosoma 20, en especial el gen Jagged 1.

Conclusión

De acuerdo al tumor retroperitoneal que presenta la paciente, se concluye que el síndrome del Alagille fue el principal factor de la descompensación de los órganos afectados. Ya que se presentó una alteración en los genes en el desarrollo embrionario, es por ello que la paciente está padeciendo un retraso en el crecimiento y desarrollo, siendo de vital importancia preservar su estado de salud. El tumor que presenta la paciente, se observó que era de origen benigno por los resultados obtenidos por servicio de patología, ya que solo contiene tejido fibroso y células de extirpe inflamatorio. Por este motivo es necesario diagnosticar y tratar estas neoplasias lo más temprano posible.

Agradecimientos

Esta participación fue posible gracias al apoyo del programa DELFIN, quien nos brindó la oportunidad de elevar nuestro nivel académico, pero sobre todo damos gracias al equipo multidisciplinario del Hospital de Oncología Pediátrica, y con un cariño especial al investigador el Dr. Javier Enrique López Aguilar, a la Dra. Yadira Betanzos, a los doctores de pediatría, cardiología, gastroenterología y Enfermería. Muchas gracias a todos, por nuestra parte les estaremos por siempre agradecidas teniendo la certeza y la seguridad de que pondremos en práctica todo lo aprendido.

Referencia

- Wyllie Robert, M.D.** Gastroenterología pediátrica. Síndrome de Alagille 2da edición.
Lopez A. Enrique, Sepulveda V. Ana, et al. (2011) (vol.10) Gaceta Mexicana de Oncología P.27
García S, Arévalo E, Cantillana J, et al. (1976) Tumores retroperitoneales. P 567-569
Gill W, Carter DC, Durie B. (1970). Retroperitoneal Tumors: A review of 134 cases. P 213-221.
Jacobosen S, Juul-Jorgensen S. (1974). Primary retroperitoneal Tumors. A review of 26 cases. P 498-500.



Expresión de marcadores de troncalidad en líneas celulares cancerosas de cérvix

Karen Griselda de la Cruz López (Becario del programa Delfín)

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Alejandro Manuel García Carranca (Asesor)

carranca@biomedicas.unam.mx

*Unidad de Investigación Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México– Instituto
Nacional de Cancerología. México, D.F.*

Resumen

Se sabe que los tumores presentan una gran heterogeneidad celular, sin embargo se ha prestado especial atención a una subpoblación de células conocidas como células troncales cancerosas (CSC) porque poseen la capacidad de autorenovarse, generar nuevos tumores, ser altamente metastásicas y resistentes a los agentes quimioterapéuticos. Las CSC expresan marcadores específicos que son característicos de troncalidad, el grupo de trabajo del Laboratorio de Virus y Cáncer ha identificado y caracterizado marcadores de troncalidad de las líneas celulares provenientes de cáncer de cervix algunos de ellos son; la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) y CD49f. Es de primordial interés identificar, aislar y estudiar a este tipo celular que conforma un tumor. Materiales y métodos. A partir de un cultivo en monocapa a una confluencia del 70% se sembraron en cajas de ultrabaja adherencia en medio Mammocult para dar lugar a la formación de esferas y medir la expresión de los marcadores de troncalidad: ALDH y CD49f mediante citometría de flujo. Resultados. De acuerdo a los experimentos realizados se obtuvo una mayor expresión de los marcadores en el día 2 y en el día 3 de enriquecimiento. Conclusión. Es importante evaluar la expresión de los marcadores ALDH y CD49f para el aislamiento correcto de la CSC y su posterior utilización en los experimentos siguientes, en este trabajo realizado se concluye que una mayor expresión de los marcadores se da en el segundo y tercer día de enriquecimiento.

Introducción.

Dentro de un tumor, coexisten poblaciones celulares con una gran variedad de características fenotípicas manifestadas en su morfología, expresión de antígenos de superficie, proteínas de diferenciación, lo que genera una heterogeneidad celular (Dalerba *et al.*, 2007). Existen dos teorías que explican esta heterogeneidad celular, uno es conocido como el modelo estocástico que indica que la heterogeneidad celular proviene de poblaciones equivalentes biológicamente como producto de una selección y expansión de clones con ventajas de crecimiento (Nowell, 1976). De esta manera basándose en estos supuestos, cualquier célula dentro de un tumor puede ser capaz de dar lugar a la formación de nuevos tumores. Por otro lado existe el modelo jerárquico que menciona que la heterogeneidad celular deriva de poblaciones fenotípicas y funcionalmente diferentes dentro de un tumor que contiene una subpoblación particular de células, denominada células troncales cancerosas (CSC), las cuales son la única subpoblación capaz de formar nuevos tumores y metástasis (Reya *et al.*, 2001). En el 2006, se definió a la CSC como una célula dentro de un tumor que posee la capacidad de autorrenovación y dar origen a todos los linajes heterogéneos de células que

comprenden un tumor. Así, las CSC pueden ser definidas experimentalmente por su habilidad para generar un continuo crecimiento del tumor (Reya et al., 2001). Sin embargo la identificación y aislamiento de las CSC inició en 1994. Existen diversas estrategias metodológicas que han sido ampliamente usadas para identificar y aislar las CSC como es la identificación de antígenos de superficie celular, exclusión del colorante Hoechst 33342, formación de esferas en cultivo celular, y la formación de tumores en ratones inmunodeprimidos. Lapidot *et al*; identificó células que inician la leucemia mieloide aguda y los seleccionó basándose en la expresión de marcadores de superficie. Bonnet et al; usó poblaciones celulares purificadas encontrando que las células que inician la leucemia fueron exclusivamente CD34⁺⁺ CD38. Al-Hajj *et al*, identificó y aisló células tumorigénicas de cáncer de mama como células de linaje CD44⁺ CD24^{LOW} (Al-Hajj and Clarke, 2004). Las CSC han sido identificadas en muchos otros tumores como cerebro, próstata, colon, cuello y cabeza, páncreas, pulmón y melanoma (Carrasco *et al.*, 2014). Sin embargo en cáncer cervicouterino no hay muchos reportes. Recientemente en el grupo de trabajo del Laboratorio de Virus y Cáncer se identificó la expresión de ciertos marcadores de troncalidad como Anexina II, Citoqueratina 17 y CD49f en CSC derivadas de CaCU (Lopez *et al.*, 2012).

El cáncer cérvico uterino (CaCU) es un problema de salud prioritario siendo el segundo cáncer más común de mujeres en el mundo y en México ocasionando la muerte prematura de aproximadamente 274,000 mujeres cada año, afectando principalmente a las mujeres más pobres (CNEGSR, 2012). Es por ello de gran interés evaluar la expresión de los marcadores de troncalidad después de haber sufrido una transición epitelio-mesénquimatoso utilizando líneas celulares derivadas de CaCU.

Metodología

Modelo experimental: Se utilizó la línea celular HeLa la cual es una línea celular que deriva de adenocarcinoma de cérvix uterino con la presencia del Virus del Papiloma Humano de tipo 18. Las células fueron cultivadas en medio DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium/ Nutrient mixture F-12 Ham) (SIGMA) suplementado con 10% de suero fetal bovino en una atmósfera con 5% de CO₂, a 37°C. Una vez que alcanzaron el 70% de confluencia se tripsinizaron y se sembraron en una caja de P100 de ultrabaja adherencia en medio MammoCult libre de suero, con la finalidad de evitar la diferenciación y dar lugar a la formación de esferas celulares. Una vez formadas las esferas se realizó un curso temporal de la expresión de los diversos marcadores de troncalidad ya identificados y descritos por el laboratorio de Virus y Cáncer por medio un tratamiento de previo con un kit de detección y se determinó el patrón de expresión mediante una citometría de flujo.

Resultados

Se realizó una cinética de expresión de los marcadores de troncalidad ALDH y CDC49f tras los días 1, 2, 3 y 4 de enriquecimiento en medio específico para el crecimiento de cultivo en esferas Mammocult libre de suero, ver figuras 1-8.

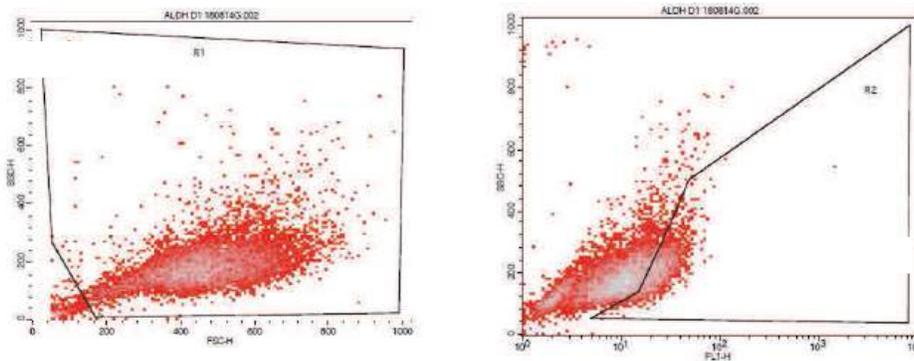


Figura 1. Expresión de ALDH en células troncales HeLa al segundo día de enriquecimiento. Se realizó el tratamiento de las células al primer día de crecimiento con el anticuerpo dirigido a anti-ALDH, y se identificó su expresión mediante citometría de flujo.

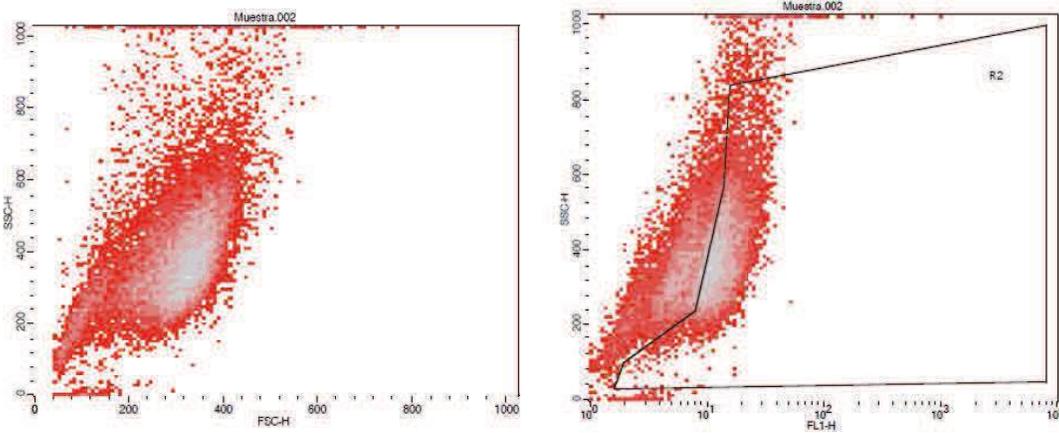


Figura 2. Expresión de ALDH en células HeLa al segundo día de enriquecimiento en medio Mammocult. En el panel del lado izquierdo se observa la población total de células con ALDH y del lado izquierdo se observa la población de células que fueron positivas a ALDH identificado como R2.

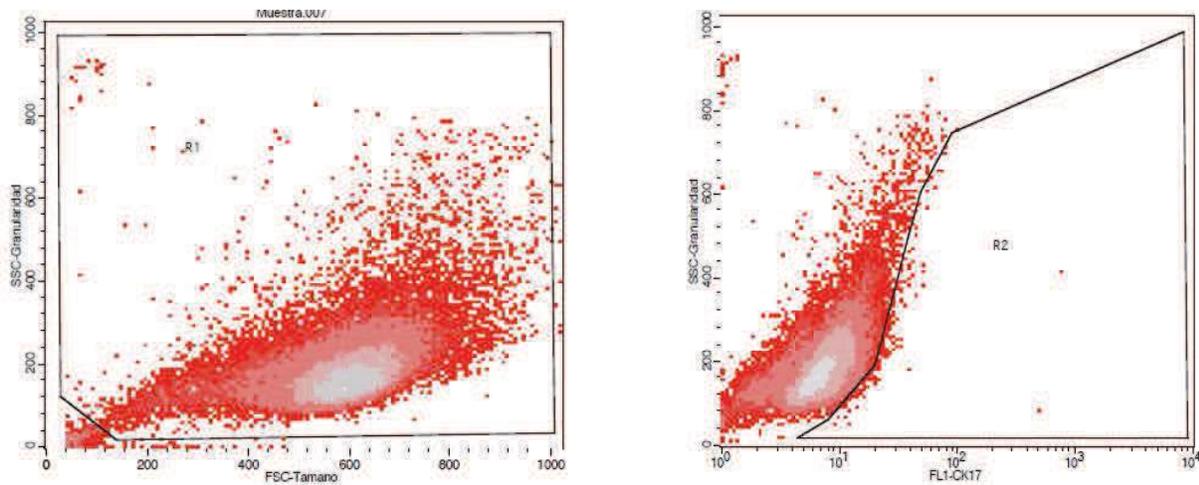
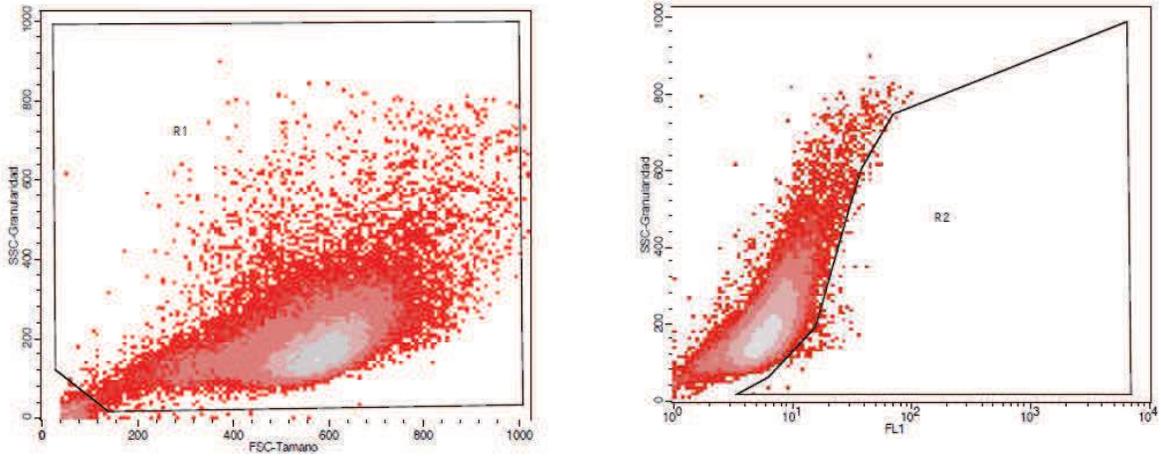


Figura 3. Expresión de ALDH en células troncales HeLa al tercer día de enriquecimiento. En el panel del lado derecho observamos la población celular total, mientras que del lado derecho se observan células positivas ALDH, observando una población mayor enriquecidas con ALDH.



Figuras 4. Expresión de ALDH en células troncales HeLa al cuarto día de enriquecimiento. Tras el respectivo tratamiento con los anticuerpos específicos para ALHD se midió la expresión al cuarto día de enriquecimiento y se observó una disminución en la expresión.

Expresión de CDC49F

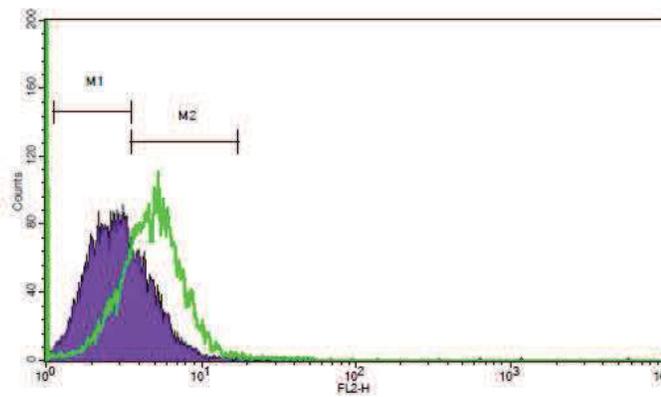


Figura 5. Expresión de CDC49f en células troncales cancerosas en el primer día de enriquecimiento.

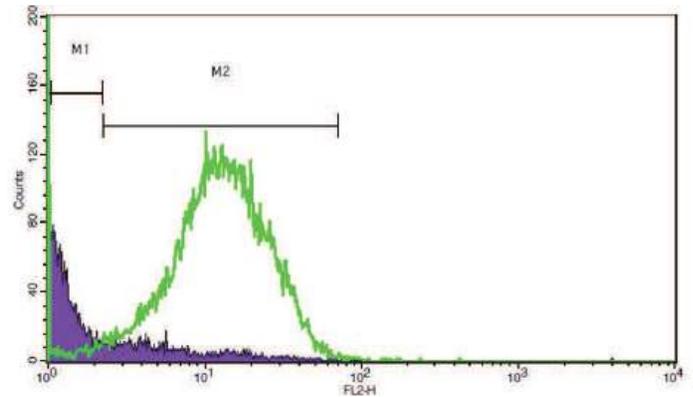


Figura 6. Expresión de CDC49f en células troncales HeLa al segundo día de enriquecimiento.

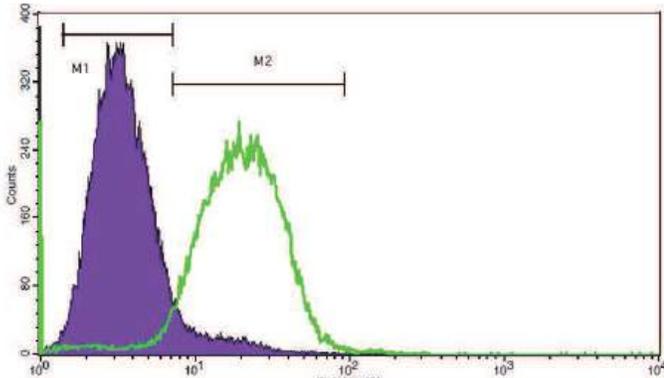


Figura 7. Expresión de CDC49f en células troncales cancerosas al tercer día de enriquecimiento.

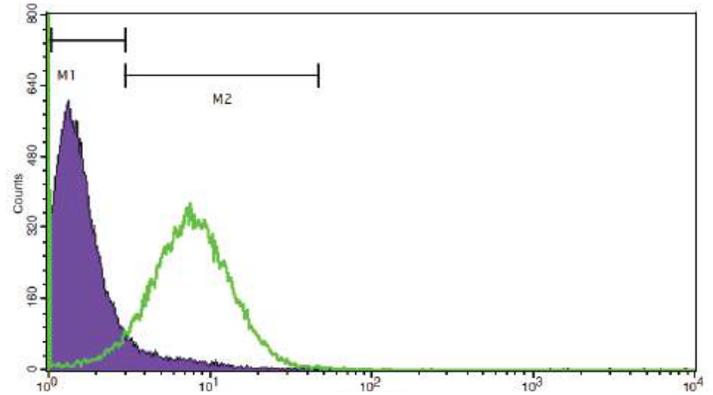


Figura 8. Expresión de CDC49f en células troncales cancerosas al cuarto día de enriquecimiento.

Discusión

En el grupo de trabajo del Laboratorio de Virus y Cáncer se identificó la expresión de diversos marcadores de troncalidad entre ellos: Anexina II, ALDH y CD49f dado que no existe un reporte de cuál es el patrón de expresión exacto y además es necesario identificar la cinética de expresión de estos marcadores después de la transición epitelio mesenquimal debido a esto el propósito de mi estancia en el laboratorio fue precisamente determinar el día exacto en la cual hay mayor expresión de estos marcadores. Tras la realización de tratamiento con los anticuerpos específicos correspondientes se llevó a cabo la lectura por citometría de flujo, identificando que al segundo y tercer día se observa una mayor expresión de los marcadores ALDH y CDC49f con un total de eventos. Sin embargo es necesario realizar más pruebas que con la expresión otros marcadores de troncalidad así como con la utilización de otras técnicas para identificar la troncalidad de las células obtenidas a partir de un cultivo en monocapa.

Conclusión

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que la expresión de ALDH y CDC49f fue expresada mayormente al segundo y tercer día de tratamiento por lo tanto es en este día donde la mayoría de nuestro cultivo celular se encuentra mayormente enriquecido con la población de células troncales. Dado que las CSC son un grupo celular que conforman un tumor y pueden dar origen a otro tumor y son altamente metastásicas y resistentes a tratamientos farmacológicos es de suma importancia la correcta identificación así como la detección de vías de señalización desreguladas que controlen la capacidad autorrenovadora entre otras.

Referencias

- Al-Hajj, M. & Clarke, M. F. (2004) Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene*, 23, 7274-82.
- Carrasco, E., Alvarez, P. J., Prados, J., Melguizo, C., Rama, A. R., Aranea, A. & Rodriguez-Serrano, F. (2014) Cancer stem cells and their implication in breast cancer. *Eur J Clin Invest*, 44, 678-87.
- Dalerba, P., Cho, R. W. & Clarke, M. F. (2007) Cancer stem cells: models and concepts. *Annu Rev Med*, 58, 267-84.
- Lopez, J., Ruiz, G., Organista-Nava, J., Gariglio, P. & Garcia-Carranca, A. (2012) Human papillomavirus infections and cancer stem cells of tumors from the uterine cervix. *Open Virol J*, 6, 232-40.
- Nowell, P. C. (1976). The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194, 23-8.
- Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F. & Weissman, I. L. (2001) Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 414, 105-11.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Análisis de enfermería de algunas causas de gerascofobia en el curso vital humano. Toluca, Estado de México, México, Julio, 2014

Yamileth Arumir Calderón (Becario programa Delfín)

Miya_629@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería N°4 de la Universidad Autónoma de Guerrero

A.GO. Moisés García Rosete (Asesor)

Facultad de Enfermería y Obstetricia y Licenciatura en Gerontología.

Moy_5707@yahoo.com.mx

Resumen

El objetivo del presente estudio es analizar algunas causas de gerascofobia en el curso vital humano. Se realizó con un enfoque cuali-cuantitativo, con tipo de estudio transversal, descriptivo y analítico. Se incluye en la línea de investigación: Envejecimiento, cultura y salud. Se tomó una muestra de 210 personas balanceada en cuanto a grupos etarios y género, con la hipótesis de que en cada etapa de la vida y en cada género se tienen distintos temores. Se utilizaron 2 instrumentos, uno con 18 preguntas dicotómicas aplicado la encuesta para personas de 4 a 59 años y otro con 20 preguntas dicotómicas, para adultos mayores de 60 años y más, ambos con una pregunta abierta. Dicho instrumento se aplicó en alumnos de nivel preescolar, primaria, secundaria y padres de familia del Colegio Montessori, alumnos de nivel Preparatoria No.1 de la Universidad Autónoma del Estado de México: Plantel Adolfo López Mateos y asistentes a la Casa de Día para Adultos Mayores del DIFEM.

Se incluyeron 5 capítulos en el marco teórico, donde se describen las características biológicas, psicológicas y sociales de los distintos grupo etarios, el envejecimiento demográfico actual, la

biología del envejecimiento, una descripción de la gerascofobia y gerontofobia y las investigaciones relacionadas con el problema de investigación.

Los resultados muestran que las causas más frecuentes de gerascofobia en personas de 4 a 59 años son temor a perder la funcionalidad del cuerpo, temor a perder la memoria y temor a las enfermedades. Las causas más frecuentes de temor al envejecimiento en los adultos mayores de 60 y más son temor a la muerte de los seres queridos, temor a perder la memoria y temor a no poder ayudar a sus hijos.

Palabras clave: gerascofobia, curso vital humano.

Introducción

El presente trabajo pretende dar a conocer cuáles son algunas cosas de temor al envejecimiento en los distintos grupos etarios y en cada género.

Contiene la descripción breve sobre varios aspectos que aborda la gerontología para que el lector pueda entrar en contexto con la problemática y su magnitud. Principalmente, fobia y miedo son cosas distintas, la primera es un temor irracional, desmedido e incontrolable, mientras que el segundo es temor identificado y controlable, el cual se presenta como una respuesta protectora ante agentes nociceptivos.

La gerascofobia es un temor irracional a envejecer, así la gerascofobia puede estar acompañada de la gerontofobia, y juntas pueden llevar al individuo a sus consecuencias probables, como la discriminación y el maltrato al adulto mayor.

El temor a envejecer es un problema psicológico que puede aumentar conforme lo hace el envejecimiento demográfico actual. Es por eso que surge la necesidad de saber más sobre las posibles causas de temor al envejecimiento para tratar el problema desde sus orígenes y poder prevenirlo.

Justificación

El presente trabajo de investigación aborda el estudio de la gerascofobia desde sus orígenes, considerándolo como un trastorno bio-psico-social y espiritual que persiste por desconocimiento de nuestra naturaleza humana y falta de aceptación del proceso de envejecimiento y adaptación al curso vital. (García, 2012:1)

El temor a ciertas cosas y circunstancias puede tener sus orígenes en los genes humanos, experiencias negativas o la conciencia de la propia vulnerabilidad.

La gerascofobia, que significa miedo irracional a envejecer se ve estrechamente relacionada con la gerontofobia, la cual se define como un persistente, injustificado y anormal miedo a la gente anciana, éstos son fenómenos que se están presentando como problema de salud en todas las etapas de la vida. Probablemente una de las consecuencias de la gerascofobia se refleja en el maltrato a los adultos mayores, sobre todo en los que son parte de la familia.

Entonces es evidente que no se trabaja en la prevención porque se desconocen y se ignoran las causas del problema y sus orígenes. La descripción integral de la gerontofobia está en terreno poco explorado. Por esto, resulta importante indagar entre la población, para conocer cuáles son algunas causas reales de gerascofobia y no limitarse solo a teorías.

Adaptarse a los **cambios** de la persona adulta mayor no es fácil para quien se encuentra en esta etapa de vida, ni para la familia y amigos que lo apoyan; por lo cual, existe una rama de la **enfermería especializada** en el cuidado de la senectud.

El propósito de la enfermería geronto-geriátrica como: ayudar al adulto mayor y sus cuidadores a enfrentar el proceso de envejecimiento, entendiéndolo como proceso natural y adaptativo.

La enfermera (o)

1.- debe de tener responsabilidad del proceso de cuidados, que sea capaz de garantizar atención individualizada a la persona anciana, utilizando un método sistemático y organizado, valorando sus necesidades, limitaciones, recursos y posibilidades de funcionamiento autónomo. Poder planificar actividades en conjunto con el adulto mayor y su familia, que le permitan mantener o recuperar la mayor autonomía al que pueda adquirir, evaluando los resultados de su intervención.

2.- Desarrolle actividades de prevención de la enfermedad o problemas derivados teniendo en cuenta las situaciones de fragilidad en que se encuentran la mayoría de personas mayores, identificando situaciones de riesgo o bien el seguimiento de tratamientos en situaciones crónicas y la ayuda personal en el proceso de morir.

3.- Participe del trabajo en equipo interdisciplinar para ofrecer y dar atención integral, definiendo y formulando su especificidad en la atención a las personas mayores, asumiendo el rol que le corresponde en cada circunstancia, intercambiando y aportando a los otros profesionales las opiniones, conocimientos y experiencias en cualquier ámbito o situación.

4.- Asuma la responsabilidad de sus decisiones y acciones, centrando su trabajo profesional en el respeto a la persona mayor y su familia, ayudarles a superar las dificultades de salud, aportando las decisiones y comportamientos a los principios bioéticos , autonomía y justicia.

La enfermería da los conocimientos, habilidades y las actitudes necesarias para actuar en cualquier circunstancia de acuerdo para cada etapa de la vida:

- a) Realizar la valoración clínica del adulto y adulto mayor sano y con problemas de salud neurológicos, inmunológicos, digestivos, neumológicos, cardiológico, renales aplicando el modelo de Virginia Henderson y con el Proceso de Atención de Enfermería.
- b) Realizar la valoración clínica de la mujer en su ciclo vital en situación de salud y enfermedad aplicando el modelo de Virginia Henderson y con la metodología del Proceso de Atención de Enfermería.
- c) Realizar la valoración clínica del niño y del adolescente en situación de salud y enfermedad aplicando el modelo de Virginia Henderson y con el Proceso de Atención de Enfermería
- d) Aplicar las diversas tecnologías para el cuidado a la salud de la persona en su ciclo vital, durante el proceso salud – enfermedad, considerando a la tecnología como una herramienta complementaria para el cuidado y autocuidado.
- e) Aplicar sus conocimientos sobre educación y administración para la salud en cualquiera de los niveles de atención de la misma.
- f) Desarrollar su autoconocimiento, el cual le permitirá desarrollar su profesión con satisfacción, responsabilidad y liderazgo en el cuidado de los seres humanos.

Con estos cuidados aportamos y se brindan los conocimientos de los profesionales a los diferentes grupos etarios de acuerdo a sus déficit, y con el modelo de Virginia Henderson que son las “14 necesidades” ayudamos a que las personas con patologías, problemas psicomotores

y mentales se adapten y se reintegren a su medio y así también apliquen el autocuidado de acuerdo a su edad.

Con el producto de esta investigación se podrán formular una serie de programas para, a partir de conocimientos verídicos, educar a la población sobre el proceso de envejecimiento normal, de esta manera se tendrá un envejecimiento sano y activo, se podrá prevenir la gerascofobia y con ella el maltrato y los diversos tipos de violencia.

Marco teórico

Capítulo I.- campo de estudio de la gerontología

ANTECEDENTES

Etimológicamente, el término Gerontología proviene del griego, *geron*, viejo y *logos*, estudio. La gerontología es la ciencia que estudia el envejecimiento y todos los fenómenos asociados a éste, dividiéndose en tres ramas de acuerdo a los aspectos que recoge: la gerontología social, cuyo objetivo es el estudio de todos los aspectos socioeconómicos y culturales que influyen en el envejecimiento; la gerontología experimental, referida a los aspectos de investigación que nos permitirían avanzar en el conocimiento del envejecimiento y, por último, la gerontología clínica, que se referiría a todo lo que tiene que ver con la enfermedad, su prevención, su diagnóstico y la intervención terapéutica, incluida la rehabilitación y readaptación social. (Millán, 2011:2)

Clasificaciones sobre el curso vital humano

1. Por último mencionaremos que en la República Mexicana contamos con las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), que son regulaciones técnicas que sirven para garantizar los servicios que contratamos o los productos o servicios que adquirimos, con el fin de proteger la vida, la seguridad y el medio ambiente; la Norma Oficial Mexicana NOM -008-SSA2-1993, en relación con la edad y su proceso biológico, clasifica así: Recién Nacido: menor de 28 días; Lactante menor o infante: menor de un año; lactante mayor: un año a un año 11 meses; Preescolar: dos a cuatro años; Escolar: de cinco a nueve años; Adolescente: de diez

a diecinueve años, Persona adulta a partir de los 20 años y hasta los 59 años, 11 meses de edad, Adulto mayor es la persona de 60 años de edad o más.

Capítulo II.- Envejecimiento demográfico

El envejecimiento demográfico consiste en un cambio en la estructura por edades, generalmente en un aumento del porcentaje de personas de edad avanzada de acuerdo con los resultados del Censo 2010, actualmente en México hay 10 millones de adultos mayores (AM) de 60 años o más, que representan 9% del total de la población. La tasa de crecimiento anual es de 3.8%, lo que implica que en 2018 habrá 14 millones. (INEGI, 2010:1)

ESPERANZA DE VIDA Y ENVEJECIMIENTO

La esperanza de vida es una estimación del promedio de años que le resta por vivir a un grupo de personas de una misma edad, calculada de acuerdo al patrón de mortalidad del año de referencia.

CAPITULO III.- FOBIAS

Una fobia es un temor extremo, irracional, de algún objeto o situación específico; la persona reconoce que el objeto de su temor es inocuo pero aun así sigue, presentando temor (este es el elemento irracional). (D.Gross, 2012)

El miedo es lo que sentimos cuando estamos frente a un peligro real; no solo es normal, sino que está ligado al sentido de la supervivencia y es reconocida por la persona que lo padece.

El Manual de Diagnóstico de los Trastornos Mentales (DSM-IV), define las fobias como un “temor acusado y persistente que es excesivo o irracional, desencadenado por la presencia o anticipación de un objeto o situación específica”.

Gerascofobia

Se define como el miedo a envejecer influyen varios factores relacionados ; los que padecen este trastorno suelen caracterizarse como personas con rasgos de personalidad ansiosos, histéricos o narcisistas.

Link: Un artículo sobre el miedo a envejecer y la gerascofobia

http://www.elsur.cl/edicion_hoy/secciones/articulo.php?id=79880&dia=1161831600

En estas familias presentan un patrón de conductas negativas hacia las personas y si no se tiene los valores éticos que son inculcados en el seno familiar y en cierta manera una discriminación hacia los adultos mayores podrían llegar al maltrato hacia estos.

Gerontofobia

Se define como un persistente, anormal e injustificado miedo a la gente anciana. este término se utiliza no sólo para denominar miedo a los viejos, sino también desprecio o rechazo hacia las personas de la tercera edad. Se trata de un mal social muy común en nuestra época, donde los viejos son relegados a los asilos .

Marco contextual

La selección de la muestra y la aplicación del instrumento se realizó en tres instituciones educativas de prestigio de la Ciudad de Toluca, Estado de México: Colegio Montessori ubicado en la calle Mariano Matamoros 505 Sur, Colonia Francisco Murguía, C.P: 50130, cuenta con nivel preescolar, primaria y secundaria, Preparatoria número 1 de la UAEM en Av. Venustiano Carranza No. 300, C.P. 50130 y en la Casa de Día del Adulto Mayor del DIFEM la calle Bravo Norte 404, colonia Santa Bárbara. La muestra se decidió tomar de estos lugares por que tiene un nivel socio económico igual la muestra del grupo etario de los adultos fueron padres de los alumnos del colegio Montessori.

Planteamiento del problema

Todos los seres humanos nacen, crecen, y a la vez que envejecen van adquiriendo experiencia y conocimientos, el cuerpo, por su parte, va sufriendo una serie de modificaciones biológicas, psicológicas, sociales y espirituales. Es entonces que se llega a la gerascofobia, la cual significa miedo irracional a envejecer. A menudo los gerascófobicos padecen otras fobias simultáneamente, entre ellas la **gerontofobia**, que es el miedo a las personas ancianas y, en la mayoría de las ocasiones, van acompañadas por un sentimiento de desprecio y rechazo hacia los adultos mayores.

Otro punto son los medios de comunicación, quienes tienen fuerte impacto ante las personas, ya que fomentan estereotipos sociales para intentar detener el envejecimiento mediante actividades

como cirugías estéticas, y accesorios juveniles, adoptar comportamientos y actitudes que no son acordes a su edad.

Desde el nacimiento ya se tiene herencia fenotípica y genotípica, a su vez, con el paso del tiempo se van adquiriendo hábitos tanto de la familia como del entorno, Si el seno familiar no cuenta con valores sólidos y se educa a los menores sobre el proceso de envejecimiento, a éste le será difícil la aceptación y adaptación a este proceso, dando así origen a un gerascofóbico y probablemente un gerontofóbico. El futuro indica que se avecina un envejecimiento demográfico y con él un aumento de temor al envejecimiento. Por tanto planteamos investigar: ¿Cuáles son algunas causas de la gerascofobia en el curso vital humano. Toluca Julio 2014?

Hipótesis

Algunas causas de gerascofobia en el curso vital humano tienen una distribución diferente de acuerdo al grupo etario y al género

Objetivos

Analizar algunas causas de gerascofobia en el curso vital humano. Toluca Julio 2014

Método

Es una investigación con enfoque mixto, el tipo de estudio es transversal, descriptivo y analítico. Está en la línea de investigación: Envejecimiento, cultura y salud. El Universo fue todo ser humano que envejece a partir de los 4 años en adelante, mientras que la población fue: Nivel preescolar, primaria y secundaria del Colegio Montessori; Nivel Bachillerato de la Preparatoria No. 1 de la Universidad Autónoma del Estado de México: Plantel Adolfo López Mateos; Adultos jóvenes de 19 a 40 y Adultos maduros de 41 a 59 de padres de Familia de alumnos del Colegio Montessori; Adultos mayores de 60 años y más de la Casa de Día del DIFEM.

Dado los objetivos del estudio se obtuvo una muestra balanceada respecto a grupo etario, género y nivel socioeconómico de cada grupo etario fueron 15 personas mujeres y 15 hombres y la muestra total fue de 210 personas. El muestreo fue de tipo probabilístico pues todos los sujetos tenían la misma probabilidad de ser electo, y respetando la libre participación de cada participante.

Para la fase teórica tenemos que la recolección de la biblioteca de la Facultad de Enfermería y Obstetricia, así como revistas científicas en línea como Redalyc, Scielo y Medline y formato pdf en línea.

Por último, en la fase analítica, la captura de los datos obtenidos fueron en tablas dinámicas en el programa Excel. La realización del análisis descriptivo de los datos fue a través de la obtención de medidas de tendencias central. Las conclusiones y sugerencias se realizaron desde el punto actual enfermería.

Los criterios de inclusión tomados en cuenta fueron: toda persona a partir de los 4 años, personas que deseen participar, alumnos inscritos en las instituciones y padres de familia de los alumnos de los mismos institutos y personas adultas mayores que acudan a la casa de día del DIFEM. Mientras que los criterios de exclusión fueron: personas que tengan alguna enfermedad mental, alumnos que no completen el documento de la encuesta, encuestas muestren un claro sesgo en la información (que responden a todas las causas mostradas NO o a todo SI).

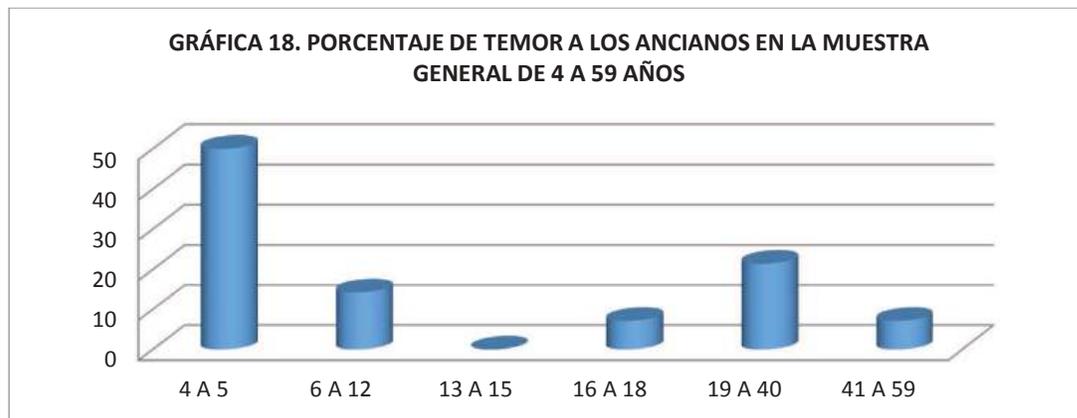
Conclusiones

- En la muestra general las causas principales de temor al envejecimiento son: temor a perder la funcionalidad del cuerpo, temor a perder la memoria, temor a que las capacidades físicas disminuyen y temor a las enfermedades.
- El grupo etario de 4 a 5 años tiene gran variabilidad de causas de gerascofobia entre las que destacan: temor al rechazo, temor a la muerte y temor a que las capacidades físicas disminuyen.
- Los niños de 6 a 12 años tienen temor a la muerte, temor a perder la funcionalidad del cuerpo, temor a perder la memoria tienen mayor número de causas de temor al envejecimiento que las femeninas del mismo grupo.
- Los adolescentes de 13 a 15 temen a perder la funcionalidad del cuerpo, temor a las enfermedades y temor a perder la .Respecto al género las causas de temor al envejecimiento son similares.
- Los jóvenes de 16 a 18 años temen a perder la funcionalidad del cuerpo y temor a perder la memoria. Las femeninas de este grupo tienen mayor número de temores que los masculinos.

- Los adultos de 19 a 40 años tienen temor a que las capacidades físicas disminuyen, temor a perder la autonomía y temor a perder la funcionalidad del cuerpo.
- Los adultos maduros de 41 a 59 años tienen temor a perder la funcionalidad del cuerpo, temor a perder la memoria y temor a ser dependientes.
- Los adultos mayores de 60 y más años temen a la muerte de sus seres queridos, temor a perder la memoria y temor a no poder ayudar a mis hijos. Si existe diferencia entre género, mas no significativa.
- Las causas de temor al envejecimiento presentes en la mayoría de los grupos etarios de los 4 a los 59 años son: temor a perder la funcionalidad del cuerpo y temor a perder la memoria. Esta última también está presente en el grupo etario de 60 y más años como una de las causas con mayor porcentaje.(ver el anexo)

Se concluye que existen diferentes causas de temor al envejecimiento respecto a grupo etario, pero no las hay en cuanto a género.

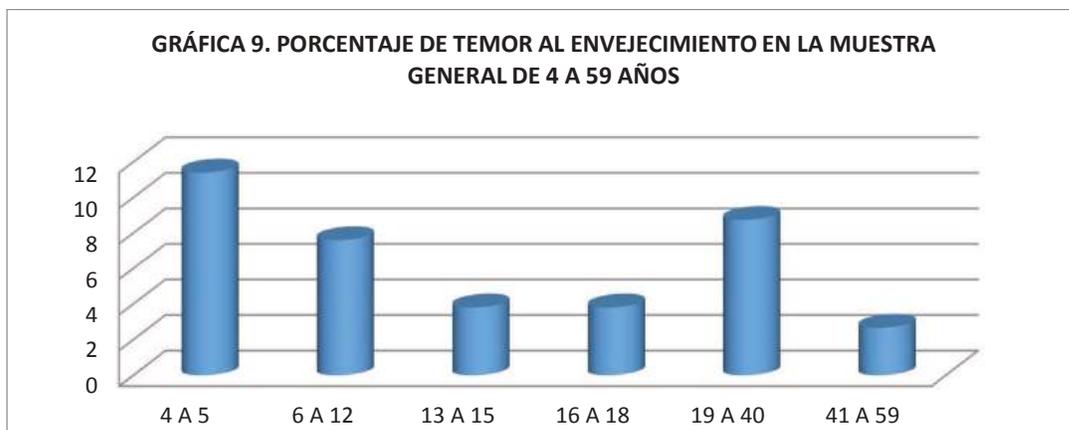
Anexo gráfico



Fuente: Datos estadísticos de las encuestas. Julio 2014.



Fuente: Datos estadísticos de las encuestas. Julio 2014.



Fuente: Datos estadísticos de las encuestas. Julio 2014.

Referencias

- Consejo Nacional de Población. (2011). *Diagnóstico socio-demográfico*. Obtenido de: <http://www.unfpa.org.mx/>
- D. Gross, R. (2005). *Psicología: La ciencia de la mente y la conducta*. Cuarta ed. Colombia: *El Manual Moderno*.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2010). *Mujeres y hombres en México 2010*. Primera ed. México: INEGI

- *García, Rosete, M. y Vélez, Álvarez, S. (2012) El origen de la Gerontofobia. "Memorias del 2º Congreso Internacional de Psicología".*
- *Millán, C. (2011). Gerontología y Geriatria. Primera ed. España: Panamericana.*
- *NORMA Oficial Mexicana NOM-167-SSA1-1997, Para la Prestacion de Servicios de Asistencia Social para Menores y Adultos Mayores. Accedido 16 d julio 2014. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/167ssa17.html>*



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Dispersiones sólidas de metronidazol/polietilenglicol 4000 utilizando calentamiento por microondas

Luis Carlos Ríos Noguera (Becario Programa UAGro)

gothic_mosa@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Efrén Hernández Baltazar (Asesor)

enfrenhb@uaem.mx

Facultad de Farmacia. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Resumen

Las dispersiones sólidas son un método muy eficaz para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles, además se incorpora el calentamiento por microondas como una alternativa más eficaz. Este proyecto plantea alternativas de mejora en la velocidad de desintegración, dureza y densidad en tabletas de metronidazol con polietilenglicol 4000 elaboradas por mezclas físicas como método convencional y el método de dispersiones sólidas con calentamiento por microondas. El objetivo principal es comprobar la mejora de tabletas elaboradas por ambos métodos. Se elabora una curva de calentamiento por triplicado comprobando la eficacia del calentamiento por microondas, además del diagrama de fases para comprobar el cambio en propiedades de acuerdo a su composición.

Palabras clave: Dispersiones sólidas, metronidazol, polietilenglicol 4000, mezclas físicas.

Introducción

Las dispersiones sólidas (DS) son una alternativa muy eficaz para aumentar la velocidad de disolución de fármacos poco solubles, teniendo en cuenta que la mejora de la solubilidad mejora la biodisponibilidad oral de este tipo de fármacos, siendo un reto en el desarrollo de presentaciones farmacéuticas sólidas, las dispersiones sólidas describen todas aquellas formulaciones donde el fármaco es disperso en una matriz biológicamente inerte, las cuales puede prepararse por: I. Fusión, II. Disolución con un solvente orgánico y III. La combinación de fusión-disolución¹. Esta alternativa fue desarrollada por Sekiguchi y Obi en 1961, para reducir el tamaño de las partículas de los fármacos³. Generalmente los soportes han sido polímeros miscibles o solubles en agua (hidrosolubles), como polietilenglicol (PEG), polivinilpirrolidona (PVP) y materiales de bajo peso molecular como los azúcares, además de utilizarse actualmente polímeros poco solubles como Eudragits®, carbómeros, derivados de celulosa y Gelucires®³. En este proyecto se utilizó el calentamiento por microondas como una alternativa que sustituye al calentamiento convencional, esta alternativa se está utilizando actualmente para la preparación de dispersiones sólidas y sistemas de liberación modificada. El primer sistema de microondas fue utilizado en 1979 en la Industria Farmacéutica por ICI (UK) y T.K. Fielder (UK), pero hasta 1989 se presentó el uso de esta alternativa por la FDA. Esta alternativa es muy utilizada puesto que no contiene suficiente energía para provocar cambios químicos en los compuestos por ionización, considerada



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

entonces como una radiación no ionizante, además de producir un calentamiento directamente en el interior de la mezcla, es más homogéneo, no requiere tener un contacto físico con el contenedor, las ondas electromagnéticas generan el calor y no una fuente térmica como en el calentamiento convencional, la velocidad del calentamiento es mayor y el tiempo más corto, entre muchas otras ventajas.

Ha sido estudiada la propuesta del uso del microondas para preparar dispersiones sólidas, además de estudiar sus características fisicoquímicas y de disolución contra las mezclas físicas, el uso de estos métodos en conjunto puede ser una estrategia farmacéutica de la cual se espera un incremento en la solubilidad y la tasa de disolución. Este proyecto plantea la alternativa del uso del calentamiento por microondas para preparar dispersiones sólidas de metronidazol el cual posee una solubilidad en agua de 10.5 mg/mL y el polietilenglicol 4000 (PEG 4000) con una alta solubilidad en agua; siendo preparadas por el método de mezclas físicas como un método convencional el cual no conlleva el uso del calentamiento por microondas y las dispersiones sólidas como la alternativa planteada, a composiciones: 80/20, 60/40, 40/60 y 20/80 para cada método de elaboración; valorando así la eficacia de acuerdo al tiempo de desintegración, la dureza y la altura de las preparaciones elaboradas, así como la eficacia del calentamiento por microondas a través de una curva de calentamiento, y la observación del comportamiento de los resultados obtenidos en el calentamiento convencional registrados en un diagrama de fases.

Metodología

Curva de calentamiento por microondas; se pesaron 100 g de agua en una balanza analítica (Explorer OHAUS, Model: E12140, Max: 210 g, con unidades en g y mg). Se calentó lo antes pesado por microondas en un Microondas (SAMSUNG con selector de potencias) por 2 min, a diferentes potencias: 10 a 50. Se registraron las temperaturas al salir del microondas con un termómetro con láser (EXTECH 42510A en °C).

Dispersiones sólidas y mezclas físicas; se elaboraran 6 g de cada composición a distintas proporciones, se realizaron 10 tabletas (500 mg c/u para cada proporción) en la tabletadora con manómetro (unidades en kg/cm³ y lb/pulg²). Se registraron las condiciones del microondas (tiempo y potencia necesaria para cada proporción). Se registraron las temperatura después de cada calentamiento con un termómetro con láser (EXTECH 42510A en °C). y se realizaron las evaluaciones: tiempo de desintegración, dureza y altura de las tabletas de las dispersiones sólidas y las mezclas físicas.

Diagrama de fases; se fundieron en la parrilla eléctrica (IKA °C-MAG HS 7 con IK ETS-D5 en °C) las dispersiones sólidas a diferentes proporciones fármaco/polímero: 90/10, 70/30, 50/50, 30/70 y 10/90. Se registraron la temperatura de fusión con el termómetro que contiene la parrilla eléctrica (IKA °C-MAG HS 7 con IK ETS-D5 en °C).

Resultados

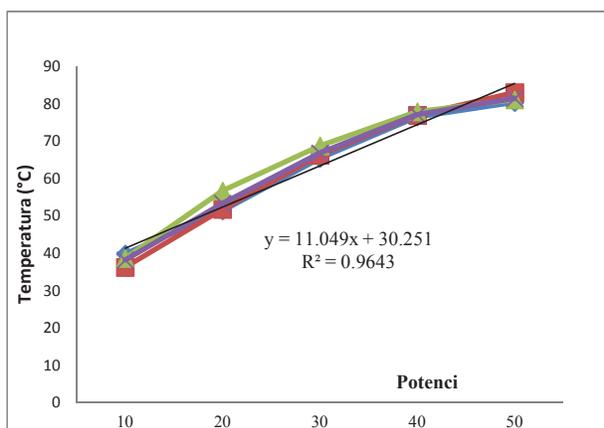
Tabla 1. Se exponen los resultados obtenidos de acuerdo a la potencia utilizada en el microondas y los respectivos resultados en cada corrida realizada, además de un promedio de cada potencia utilizada

Potencia	1ª corrida	2ª corrida	3ª corrida	Promedio
10	39.8	36.2	38.6	38.2
20	51.4	51.8	56.7	53.3
30	65.4	66.3	68.8	66.83
40	76.5	77.0	77.9	77.13
50	80.4	83.1	81.1	81.53



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



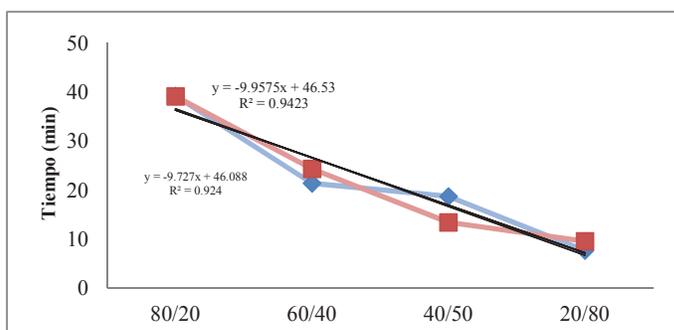
Grafica 1. El horno empleado presenta un calentamiento directamente proporcional con la potencia utilizada, además de ser reproducible.

En la curva de calentamiento del agua a diferentes potencias usando microondas se observa que el calentamiento es proporcional al aumentar la potencia, esto se comprueba al hacer pasar la línea de tendencia de cualquiera de las curvas además de tener una r^2 cercana a 1. La reproducibilidad del calentamiento se puede observar al ver que las curvas obtenidas están prácticamente superpuestas, esto puede medirse con la desviación estándar a cada potencia empleada. Dispersiones sólidas y mezclas físicas, ver tabla 2.

Tabla 2. Potencia y tiempo del microondas dependiendo de la composición y la temperatura al fundir cada mezcla.

Composición	Potencia y tiempo	Temperatura final en °C
80/20	3 min a potencia 40	193.7
60/40	4:30 min a potencia 30	175.1
40/60	4:05 min a potencia 30	175.8
20/80	3:40 min a potencia 30	174.4

Las condiciones de calentamiento para obtener las dispersiones solidas fueron superiores a los puntos de fusión reportados para Metronidazol (159 a 163 °C) y del PEG 4000 (50 a 58 °C). Sin llegar a degradar al Metronidazol y el PEG 4000 si se alcanzaba a formar una solución después del calentamiento, ver graficas 2, 3, 4 y 5.



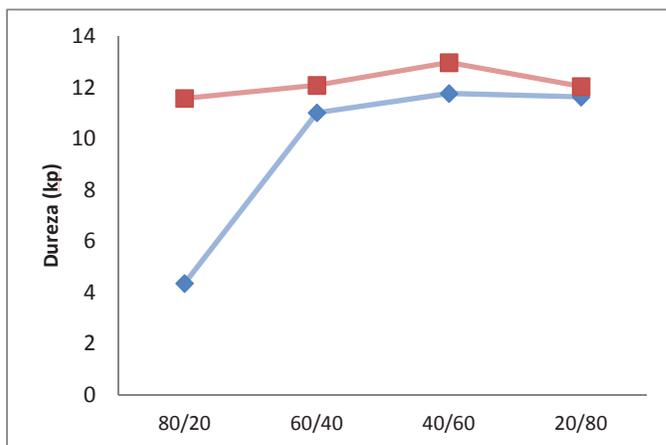
Grafica 2: Los resultados obtenidos son semejantes; puede observarse que al aumentar la cantidad de PEG 4000 se reduce el tiempo de desintegración.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

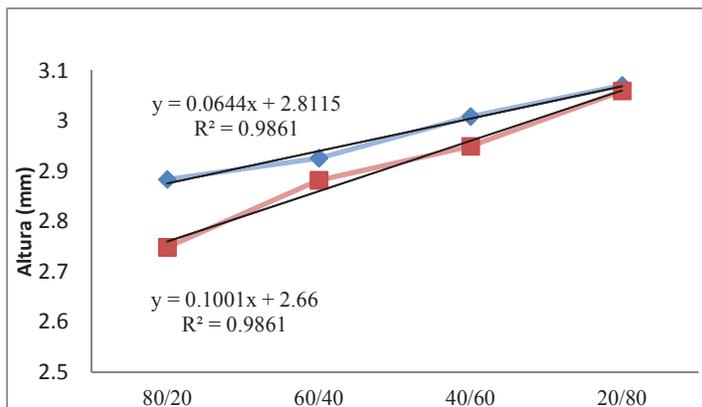
Los resultados son muy similares entre las dispersiones sólidas y las mezclas físicas.



Grafica 3: en este caso es muy notoria la diferencia de durezas presentes en las mezclas físicas y en las dispersiones sólidas, siendo más duras las dispersiones sólidas.

La fuerza ejercida para romper las tabletas de las dispersiones sólidas es mayor en comparación a las mezclas físicas, por lo tanto las dispersiones sólidas son más resistentes.

Altura



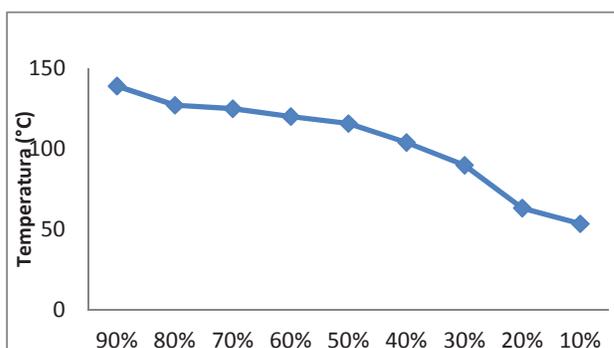
Grafica 4: Las diferencias en cuanto altura son muy notorias, siendo más altas las mezclas físicas y por lo tanto menos densas que las dispersiones sólidas.

Se comprueba que las dispersiones solidas son más densas que las mezclas físicas.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



Gráfica 5: Se encontró un diagrama de fases continuo donde no hay aparición de punto eutéctico. Y que el cambio de propiedades es muy dependiente de la composición de las mezclas.

Discusión y conclusión:

El calentamiento por microondas es un método rápido y muy eficaz por el cual se obtiene un calentamiento proporcional a las potencias utilizadas. Las dispersiones sólidas tienen un comportamiento similar al de las mezclas físicas en cuanto a la velocidad de desintegración, las dispersiones sólidas son más duras y más densas. Finalmente el diagrama de fases mostró un comportamiento continuo donde no apareció el punto eutéctico y, el cambio de propiedades fue muy dependiente a la composición de las mezclas. El uso de microondas es adecuado debido a que presenta un calentamiento directamente proporcional y reproducible respecto a la potencia utilizada. El calentamiento por microondas permitió la elaboración de dispersiones sólidas de Metronidazol. Las dispersiones sólidas en conjunto con las microondas son un método eficaz para modificar la velocidad de desintegración, dureza y densidad. El diagrama de fases Metronidazol/Poliethylenglicol 4000 presenta un comportamiento continuo dependiente de la composición de las mezclas. Sin presentar punto eutéctico.

Agradecimientos

Al docente-investigación del laboratorio No. 1 de "Tecnología Farmacéutica" UAEM, al Dr. Efrén Hernández Baltazar, sin su apoyo el rumbo además de las visiones a futuro de este proyecto hubiesen sido distintos, a la Lic. Sandra López Trujeque.

Referencias

- Castro, S., Allemandi, D., Palma, S. (2008). Utilización de dispersiones como estrategia para aumentar la velocidad de disolución de fármacos. *Nuestra farmacia*. 54, 24-28.
- Correa-Cuevas, L. P., Hernández-Baltazar, E. (2011). El uso de las microondas en la industria farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 4, 42, 6-8.
- Marín, M. T., Margarita, M. V., Rosasco, M. A. (2007). Características físicas y propiedades de disolución de dispersiones sólidas de oxazepam con carbómero 934P. *Ars Pharm.* 48 (3), 311-312.
- Moneghini, M., Bellich, B., Baxa, P., Princivale, F. (2008). Microwave generated solid dispersions containing Ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics*. 361, 1-2.
- Moneghini, M., Zingone, G., De Zordi, N. (2009). Influence of the microwave technology on the physical-chemical properties of solid dispersion with Nimesulide. *Powder Technology*. 195, 1-2.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

**Eficacia de las pruebas realizadas por el banco de sangre de Chilpancingo,
Gro. para la detección de la enfermedad de Chagas (infección por *T.cruzi*).**

**Lizandra Albarrán de la Luz; Mauritania Moreno Espinoza (Becarias Universidad
Autónoma de Guerrero)**

Lizan.8@hotmail.com y mau_moes18@yahoo.com

Unidad Académica de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Eleuterio Campos Hernández (Asesor)

ecamposh@ymail.com

Laboratorio de Epidemiología de la Universidad Autónoma de Guerrero

Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, es endémica en el continente americano.

La transfusión sanguínea se reconoce como medio de transmisión de esta enfermedad a partir de 1960, esta vía se considera como la segunda en importancia en la dinámica de transmisión, ya que aún en países donde la enfermedad de Chagas no se presenta en forma endémica, se han reportado casos pos transfusionales. El vector se vuelve infectante a los 30-40 días de haber ingerido la sangre infectada y persiste infectado toda su vida.

La enfermedad de Chagas ha sido, históricamente, una enfermedad propia de gente pobre de las áreas rurales, donde el ser humano entró en contacto con los focos naturales, al trabajar la tierra en las áreas zoonóticas en las que son abundantes las especies del vector



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

adaptables a las viviendas del ser humano. Así se forzó a los triatomos infectados a ocupar viviendas humanas, donde éstos encontraron un refugio y suficiente alimento en la sangre humana y en la de los animales domésticos.

La población a estudiar se encuentra en un alto riesgo de presentar la enfermedad, ya que esta se encuentra en una zona donde se han encontrado casos positivos de la enfermedad de Chagas, esto de acuerdo con ROBERTO HUANTE-MAGAÑA; et al. (1990) principalmente en la colonia Atlético, CNOP, y algunos puntos de municipio de Zumpango.

Se pretende estudiar 100 donantes del Banco de Sangre Regional Zona Centro, está ubicado en Chilpancingo de los Bravo, Guerrero; De cada donante se obtendrá una muestra de 5 ml de sangre para la obtención de suero, el cual se almacenara hasta el momento de su utilización de la cual se realizaran pruebas serológicas de ELISA, PCR y cultivo un examen que verifique la presencia del parasito haciendo el examen más eficaz.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, Transfusión sanguínea, Chagas, Zoonosis

Introducción.

La enfermedad de Chagas, causada por *T. cruzi* es un protozoo flagelado de la familia Trypanosomatidae, orden Kinetoplastida y género Trypanosoma. *Trypanosoma cruzi*, es endémica en el continente americano, y continúa siendo, probablemente, la causa más frecuente de miocarditis en el mundo y su pronóstico parece ser peor que el de otras miocardiopatías.

La enfermedad de Chagas empezó a expandirse a finales del siglo XIX y alcanzó las cifras más altas en la primera mitad del siglo XX; inicialmente asociada con la pobreza y las malas condiciones de vida, se encuentra ampliamente difundida principalmente en las áreas rurales, donde habita el vector triatomino capaz de transmitir la infección.

La transfusión sanguínea se reconoce como medio de transmisión de esta enfermedad a partir de 1960. Esta vía se considera como la segunda en importancia en la dinámica de transmisión, y cada vez adquiere mayor relevancia, ya que aún en países donde la enfermedad de Chagas no se presenta en forma endémica, se han reportado casos pos transfusionales (Shikanai-Yasuda M. et al.. 2009).

El vector se vuelve infectante a los 30-40 días de haber ingerido la sangre infectada y persiste infectado toda su vida (un año aproximadamente).

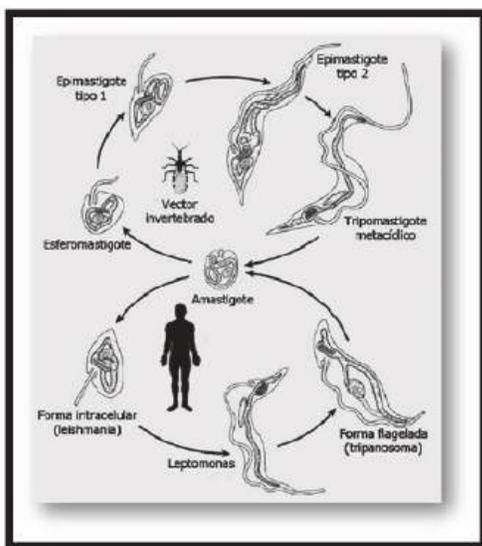
En la República Mexicana son pocos los estudios que se han realizado al respecto, quizá por esto solamente se sabe de un caso de enfermedad de Chagas pos transfusional. De acuerdo con **Schmunis et.al (1999)** aproximadamente un 20% de las personas que reciben una transfusión de un donante infectado adquieren la infección.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

La forma infectante (tripomastigote metacíclico) es transmitida al ser humano en las heces del triatoma vector en el momento de la picadura, ya que a la vez que se alimenta de sangre, defeca.



Las heces contaminadas pueden ser llevadas a la conjuntiva, por donde penetra fácilmente el parásito, o hacerlo a través de cualquier pequeña herida o más raramente, por vía oral. Al ingresar en el organismo, el tripomastigote es fagocitado por los macrófagos en cuyo citoplasma se transforma en amastigote y se divide por fisión binaria.

A los 5 días vuelve de nuevo al estadio de tripomastigote, se rompe la célula y se distribuye por el organismo a través de la circulación sanguínea y linfática, penetrando en las células de los tejidos por los que tiene especial tropismo (tejido miocárdico y tubo digestivo principalmente), donde se transforma de nuevo en amastigote. Periódicamente estos amastigotes intracelulares pasan al estadio de tripomastigotes metacíclicos y se liberan a sangre, momento en el que pueden ser ingeridos por otro insecto vector no infectado. En el interior del vector

pasa a la porción media del tubo digestivo donde se diferencia a epimastigote (forma de reproducción asexual en el vector), se multiplican por fisión binaria y migran a la porción final del tubo digestivo quedando anclados a la pared por su flagelo donde se transforma de nuevo a tripomastigote metacíclico y sale con las heces la próxima vez que el insecto se alimenta, infectando a otro ser humano y cerrando así el ciclo.

Materiales y métodos

Preparación de las comunidades.

La primera tarea del proyecto consistirá en informar a los encargados del banco de sangre para que en colaboración con ellos se realiza una mayor eficacia en las pruebas diagnósticas; también se les informara a los donantes para previamente hacer una encuesta para obtener una información previa si tuvieron alguna relación con el parásito o en las condiciones en las que habitan.

Todo en base a los objetivos del proyecto y las acciones que se desarrollarían de ahí en adelante, a fin de dar transparencia y viabilidad al trabajo proyectado.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Se pretende estudiar 100 donantes del Banco de Sangre Regional Zona Centro, está ubicado en Carretera nacional Méx- Aca km 6+ 300, Fracc. Campestre Santa Rosa, en Chilpancingo de los Bravo, Guerrero; De cada donante se obtendrá una muestra de 5 ml de sangre para la obtención de suero, el cual se almacenara -20°C hasta el momento de su utilización.
(<http://guerrero.gob.mx/municipios/centro/chilpancingo-de-los-bravo/>)

Pruebas y exámenes

- Examen Físico.

El examen físico puede confirmar los síntomas. Los signos pueden ser:

- Inspección (observar el cuerpo).
- Palpación (sentir el cuerpo con los dedos o las manos).
- Auscultación (escuchar los sonidos).
- Miocardiopatía
- Inflamación de los ganglios linfáticos
- Latido cardíaco irregular (arritmia)
- Latido cardíaco rápido (taquicardia)

Los exámenes pueden abarcar:

- Hemocultivo para buscar signos de infección
- Radiografía del tórax
- Ecocardiografía
- Electrocardiograma (ECG)
- Enzimoanálisis de adsorción (ELISA) para buscar signos de infección
- Frotis de sangre periférica para buscar signos de infección

Pruebas diagnósticas.

Se realizara un diagnóstico de la enfermedad de Chagas por la observación del parásito en un frotis de sangre bajo el microscopio. Para la visualización de los parásitos, se hace un frotis de sangre delgado y otro grueso y se les tiñe.

Sin embargo, el frotis de sangre funciona bien solo en la fase aguda de la infección, cuando se ven los parásitos circulando en la sangre.

El PCR es en sí un técnica muy simple: dos oligonucleótidos son sintetizados cada uno como secuencia complementaria de una hebra opuesta (secuencia de un segmento en cada una de las hebras) del ADN blanco en posiciones que estén más allá de aquellas donde termina el segmento a ser amplificado. Los oligonucleótidos sirven como cebadores con sus extremos 3' orientados en direcciones opuestas.



*2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014*

Memorias

Otra prueba a emplearse es el ensayo inmunoenzimático (ELISA) los lectores de ELISA son espectrofotómetros capaces de realizar lecturas seriadas de cada uno de los pocillos de la placa ELISA. A diferencia de un espectrofotómetro convencional, con capacidad de leer todas las longitudes de onda del ultravioleta y el visible de manera continua, los lectores de ELISA disponen de sistemas de filtros que solo permiten la lectura de una o pocas longitudes de onda. Son las que se corresponden con las necesarias para determinar la densidad óptica de los cromógenos más comúnmente utilizados.

En base con la Declaración de Helsinki (actualizada en 2008) nos habla sobre la investigación médica sujeta a diversa normas éticas, en este caso no perjudica la salud del ser humano ya que se pretende realizar las pruebas de las muestras que son donadas voluntariamente al banco de sangre, lo que no ocupa ningún riesgo a la salud por la pequeña cantidad de muestra sanguínea que es extraída para la realización de las pruebas, se pretende informar a los donantes de las pruebas que se le practicaran a su muestra para dar una eficacia al diagnóstico en el caso de la enfermedad de Chagas y así proteger sus derechos individuales y el mismo respeto a estos.

El objetivo de la investigación en seres humanos es para comprender las causas que conllevan a la enfermedad, la evolución que esta desarrolla y los efectos de las enfermedades para mejorar las intervenciones preventivas, dar una mayor eficacia en las pruebas diagnósticas y mejor la calidad de los procedimientos y tratamientos.

La investigación pretende que sea segura, eficaz y efectiva.

Conclusión y discusión

La investigación está en proceso debido a las condiciones que nuestra escuela presenta por la falta de luz y el acceso a esta deteriorado por las lluvias; pero en este tiempo de trabajo hemos logrado aprender conocimientos empíricos para solo ser llevados a la práctica; el conocimiento del material y equipo que se utilizara a lo largo de la investigación.

Durante la estancia las estudiantes se involucraron en el proyecto CHAGAS-UAGRO que se realiza en el laboratorio de epidemiología, específicamente en “Transmisión domiciliar de *T. cruzi* en viviendas de la Colonia El Polvorín, Chilpancingo, Gro.”, al mismo tiempo iniciaron la elaboración del protocolo de investigación: “Eficacia de pruebas diagnósticas para la detección de tripanosomiasis americana en el banco de sangre de Chilpancingo, Guerrero” el que presenta un avance del 40%.

De igual manera se logró el contacto con el encargado del Banco de sangre ubicado en Chilpancingo Guerrero donde se obtuvo una respuesta favorable para llevar a cabo una prueba más eficaz principalmente en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.



*2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014*

Memorias

A lo largo de este verano se esclareció las normas éticas que se llevarán en la investigación; cuidando el bienestar hacia el paciente, las pruebas diagnósticas que incluye la investigación que involucra seres humanos debe apoyarse con principios científicos con una literatura aceptada apoyándose en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, y en otras fuentes de información pertinente, así como los experimentos de laboratorio realizados con el respeto y la manera concisa y correcta con una ética basada en respeto y calidad de vida a la persona donante, protegiendo y haciendo valer sus derechos con una visión humanitaria

Agradecimientos.

A Dios por habernos dando la vida, por poner en nuestro camino a esos seres tan maravillosos en nuestro camino; por dotarnos de capacidades, conocimientos para enfocarnos en nuestras misiones.

A nuestros padres y hermanos; por forjarnos un camino, por la educación, el apoyo no solo económico, si no moral para buscar el bienestar hacia nosotras, por motivarnos día con día en la realización de nuestras metas y sueños.

A nuestro Gran maestro Eleuterio Campos y ahora asesor de este proyecto, por su paciencia, por motivarnos a buscar y desarrollar nuestras inquietudes, por su amabilidad y tiempo dedicado.

A nuestros amigos por compartir cada día nuevas experiencias y conocimientos, por ser parte de nuestra familia, por ese cariño y apoyo incondicional, por ayudarnos cada vez que lo requeríamos; por simplemente formar e integrar parte de nuestro pequeño mundo.

A todos ellos Gracias!!!

Lizandra y Mauritania

Referencias

Ana Pérez de Ayala Balzola, (2010). La enfermedad de Chagas en España: paradigma de una enfermedad emergente. Madrid, págs. 4-36.

Alejandro-Aguilar R, Et. al., (1993). Biología de las tres especies de América del Norte Triatominae (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) se alimentaba de conejos. Río de Janeiro, págs.7-,15

Prata A. et al. (2012) Aspectos clínicos y epidemiológicos de la enfermedad de Chagas. México, 206p



*2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014*

Memorias

Rev. Biomed 1995; 6:70-75.

Robertina R. Et al; Sanidad 2009, ministerio de sanidad y política social; pag 31-33.

Rosas F, Vanegas D y Cabrales (2007), Enfermedad de Chagas en sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Vascul. Sociedad Española de Cardiología.

Schmunis et.al, (1999) Prevención transfusional de infección por Trypanosoma cruzi en América Latina; pags.93-101

Velasco, Guzmán Bracho C.(1986) Importancia de la enfermedad de Chagas en México , pags.275-283.

Aprende en línea (2014, junio, 30).modelo Chagas. Obtenido de <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id=101133>

Bioquímica clínica para las tecnologías de salud (2014,julio, 12). ELISA. Obtenido de <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0prelicin--00-0---0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-fi-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0gbk-00&cl=CL2.10&d=HASH0177c0b33293a81c94025160.5.2.3.4&hl=0&gc=0>=0>

INEGI (2000) mapa del estado de guerrero. Obtenido de <http://guerrero.gob.mx/municipios/centro/chilpancingo-de-los-bravo/>)



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Evaluación del efecto del estradiol sobre la expresión del gen IFN- γ en un modelo experimental de malaria murina.

Araujo Arcos Lilian Esmeralda, Barragán Ramírez Beatriz

esme7907@gmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la UAGro

Dra. Martha Legorreta Herrera (**Asesor**)

marthal@unam.mx

*Laboratorio de Inmunología Molecular-División de Investigación y Posgrado FES Zaragoza,
UNAM.*

Resumen

La malaria es causada por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembras infectados del género *Anopheles*. Pese a los vastos esfuerzos por erradicar la enfermedad a nivel mundial, aún sigue siendo un problema de salud pública debido a la resistencia a insecticidas por parte del mosquito vector, a la complejidad del ciclo de vida y a la resistencia a medicamentos de *Plasmodium*. La respuesta inflamatoria de tipo celular generada por la infección con *Plasmodium* induce la liberación por medio de linfocitos T de citocinas pro-inflamatorias como interferón gamma (IFN- γ) que activan a los macrófagos para que sinteticen especies reactivas del oxígeno lo que favorece la muerte del parásito. Los síntomas de esta enfermedad son más severos en los hombres que en las mujeres, a este fenómeno se le conoce como dimorfismo sexual. Dado que las hormonas sexuales originan las principales diferencias entre los sexos y modulan la respuesta inmune, es de suma importancia comprender el papel del estradiol en la enfermedad. En este proyecto se evaluó el efecto del estradiol sobre la expresión del gen IFN- γ en un modelo experimental de malaria murina, en ratones CBA/CA machos y hembras, tratados con estradiol. Para la evaluación de la expresión del gen se utilizó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa acoplada a una reacción de retrotranscripción (RT-PCR). La administración de estradiol incrementó significativamente la



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

expresión de IFN- γ en los machos en comparación con las hembras. Estos resultados demuestran el efecto inductor del estradiol sobre la expresión de IFN- γ .

Palabras Clave: Malaria, Estradiol, IFN- γ , Inmunidad.

Introducción.

Según la OMS en 2012 se produjeron 207 millones de casos de malaria que ocasionaron la muerte de 627, 000 personas en el mundo (Organización Mundial de la Salud (WHO), 2013). La malaria o paludismo genera por parásitos del género *Plasmodium*, que dan lugar a fiebres periódicas acompañadas de anemia, esplenomegalia y depósitos de pigmento negro en los órganos interiores (Merino. F. 1987). Los síntomas de esta enfermedad son más severos en hombres que en mujeres, dado que las hormonas sexuales originan las principales diferencias entre los sexos y modulan la respuesta inmune debido al dimorfismo sexual que presenta la enfermedad (De León–Nava. M., Morales–Montor. J. 2006).

La malaria induce una respuesta inflamatoria que conduce a la liberación de citocinas; las células NK, los linfocitos T CD8⁺ y los CD4⁺, producen interferón gamma (IFN- γ) como consecuencia de la estimulación con interleucina 12 e interleucina 8. El IFN- γ activa a los macrófagos, para que sinteticen especies reactivas del oxígeno, además también modula la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa. Esta citocina pro-inflamatoria es necesaria para inhibir el crecimiento del parásito y estimular su fagocitosis. El IFN- γ es importante en la protección contra el desarrollo de síntomas graves en malaria (Cabantous et al 2005, D'Ombraín et al 2008, Perlaza et al 2011).

Diversos estudios en ratones demostraron el efecto inductor del estradiol sobre la expresión de citocinas inflamatorias durante la respuesta inmune. A nivel molecular se ha descubierto que la región promotora del gen del IFN- γ tiene un elemento de respuesta a estrógenos y se ha encontrado un incremento en los transcritos de este gen en linfocitos estimulados con estrógenos (Fox HS, Bond BL, Parslow TG. 1991). En este proyecto se evaluó el efecto del estradiol sobre la expresión del gen IFN- γ (indispensable para eliminar al plasmodio) en un modelo experimental de malaria murina utilizando ratones infectados con *Plasmodium berghei* ANKA. Para evaluar la expresión de un gen es necesario utilizar técnicas moleculares como la RT-PCR. La reacción en cadena de la polimerasa acoplada a retrotranscripción, la técnica de PCR consiste en una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de DNA utilizando como sustrato DNA complementario (DNAC), después de varios ciclos, la secuencia de DNAC blanco que proviene de un RNAm es copiada fielmente, esta conversión se logra mediante una reacción conocida como retrotranscripción catalizada por la enzima transcriptasa reversa que es capaz de convertir el RNAm en una molécula de DNAC de esta forma se analiza la expresión del RNAm del gen de interés. Los elementos necesarios para la



reacción son el DNAC que funciona como molde, la enzima *Taq* polimerasa, los oligonucleótidos, los desoxirribonucleótidos trifosfatados, el ion magnesio, una solución amortiguadora, un sistema reportero de fluorescencia y H₂O. Todos estos elementos interactuaran en tres etapas que componen la reacción: desnaturalización, hibridación y extensión, esto en un termociclador (Tamay de dios. L., Ibarra. C., Velasquillo. C. 2013).

Materiales y métodos.

Se emplearon grupos de ratones CBA/Ca machos y hembras tratados con estradiol durante tres semanas al día siguiente de la última administración, un grupo de ratones de machos y hembras se infectaron con *Plasmodium berghei* ANKA en el bioterio de la FES- Zaragoza UNAM. En el día 9 post infección se sacrificaron los ratones y se extrajo el hígado para posteriormente llevar a cabo el proceso de extracción de RNA (ver procedimiento 1 y 2), el RNA aislado se cuantifico y se retrotranscribió (ver procedimiento 3 y 4), el DNA complementario (DNAC) así obtenido se utilizó para llevar a cabo la PCR en tiempo real (PCRq) (ver procedimiento 5) para amplificar los genes de β -actina y de IFN- γ , para analizar así la expresión de estos genes ante la infección con *Plasmodium berghei* ANKA.

1. Procedimiento de extracción de RNA

Reactivos

Trizol

Mezcla cloroformo: alcohol isoamilico (49:1)

Isopropanol

dNTP's 5mM

Métodos.

En la extracción de RNA se debe mantener el tejido en hielo así como todas las soluciones empleadas para evitar la degradación de RNA por ribonucleasas.

1. Se sacrificaron los ratones por dislocación cervical y se extrajo el hígado, se colocó en un tubo cubierto por una malla de Nylon y se maceró con el émbolo de una jeringa, se utilizó PBS libre de calcio y magnesio.
2. Se centrifugó a 3000 rpm a 4°C durante 15 minutos y se desechó el sobrenadante.
3. El botón se resuspendió con agitación vigorosa y se adicionaron 400 μ L de TriZol™, nuevamente se agitó hasta que la lisis fue completa.
4. A 500 μ L de lisado anterior se le adicionan 150 μ L de una mezcla de cloroformo: alcohol isoamilico y se agitó durante 1 minuto en el vortex.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

5. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4°C.
6. Se transfirió la fase acuosa a otro tubo.
7. Se adicionaron 500 µL de alcohol isopropílico, se mezcló suavemente y guardar a -70°C hasta su uso.

2. **Procedimiento para secar muestras de RNA**

Material:

- Micropipeta de 100 µL.
- Puntas amarillas de 200 ml.
- Parafilm

Reactivos:

- Etanol al 80 % en agua DEPC
- Aguja esteril
- Agua DEPC al 0.1 % esteril

Procedimiento

1. Se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 min. a 4°C
2. Se eliminó el sobrenadante
3. Se adicionaron 400 µL de etanol al 80 % en agua DEPC al 0.1 % estéril
4. Se centrifugó a 14,000 RPM durante 15 min. a 4°C
5. Se eliminó el sobrenadante
6. Los tubos se cubrieron con parafilm, se realizaron pequeños orificios con aguja estéril
7. Colocar los tubos en un lugar limpio a temperatura ambiente y luego almacenar hasta su uso a -70 °C

3. **Procedimiento de cuantificación del RNA**

Reactivos:

- Agua DEPC al 0.1%

Método:

1. Las muestras se hidrataron con 80 µL de agua DEPC al 0.1% estéril y se agitaron por 5 minutos.
2. Se centrifugó a 14000 rpm durante 5 min. a 4°C
3. Las muestras se diluyeron 1:200 y se determinó la absorbancia a 260nm
4. Se calculó la concentración de RNA en µg/ µL de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$[RNA] = Abs_{260nm} \times \left(\frac{40\mu g}{1000\mu L} \right) \times 200$$

$$[RNA] = \mu g / \mu L$$



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

4. **Procedimiento de Retrotranscripción de RNA**

- Se utilizaron 1.5 µg de RNA. Se ajustó el volumen a 10 µL con: Agua DEPC, 1.0 µL de Oligo dT (0.05 µg/µL)
- Incubar a 65°C durante 10 min. Usando el termociclador e inmediatamente colocar en hielo durante 5 minutos. Centrifugar a 14000 rpm durante 5 segundos e incubar en hielo.
- Adicionar 10 µL de la mezcla de retrotranscripción.

Reactivos	1 Reacción	# Reacciones
Amortiguador First Strand	4 µL	
Inhibidor de RNAsa	0.1 µL	
dNTP's 5mM	2 µL	
Agua estéril	1.7 µL	
Enzima MMLV-RT	0.2 µL	
DTT 0.1 M	2 µL	

- Se incubó a 37°C por una hora
- Se incubó a 95°C durante 5 minutos
- Se colocaron en hielo durante 5 minutos y se centrifugó a 14000 rpm durante 5 segundos.
- Se adicionaron 80 µL de agua DEPC y se almacenó a -70°C hasta su uso

5. **Procedimiento para realizar PCRq.**

1. Preparación de las muestras a analizar. (máximo 44 muestras por placa)
2. Se centrifugaron y colocaron en hielo.
3. Se limpió la campana de extracción e irradiar con luz UV por 10 minutos.
4. Se preparó la mezcla de reacción, se separaron las alícuotas y se adicionó el DNAc.

Reactivos	[]/Rx	1 Rx	# de Rx * 1.11
Agua MQ	-----	1.47 µL	
Mezcla de Rx [] 2x	1x	2.5 µL	
MgCl ₂ [] 50 mM	3mM	0.3 µL	
ROX 50x	1x	0.1 µl	
Oligonucleótido B-actina [] 10 mM	200nM	0.1 µL	
TAQ 50u/ µL.	0.03u/ µL	0.03 µL	



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

DNAc	15ng/ μL	0.5 μL	
Volumen Total		5 μL	

5. .
6. Se mezcló cada tubo y se llenó la placa con 5 μL por pozo (cada muestra se hace por triplicado incluido el control negativo).
7. Cubrir la placa con film óptico y se protegió de la luz con papel aluminio.
8. Se centrifugó a 1600 rpm/5min. a 4°C.
9. Se corrió el siguiente programa de ciclaje

Ejemplo. B- Actina con los siguientes parámetros:

- a) 50 °C 2 minutos
- b) 95 °C 2 minutos
- c) 95 °C 30 Seg.
- d) 60 °C 45 Seg.
- e) 72 °C 45 Seg.
- Repetir los pasos c-d, 45 ciclos.
10. Guardar los resultados, para su posterior análisis.

Formulas y ecuaciones.

Para llevar a cabo el análisis de resultados de las PCRq se utilizó el método ΔΔCt en este modelo se evaluaron las diferentes eficiencias de la amplificación tanto para los genes en estudio como para los genes de referencia se tomaron en cuenta como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta\text{CP}_{\text{target}}(\text{control} - \text{sample})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta\text{CP}_{\text{ref}}(\text{control} - \text{sample})}}$$

En esta ecuación el cociente del gen en estudio se expresa en una muestra frente a un control en comparación con un gen de referencia. Etarget representa la eficiencia de la PCR en tiempo real del gen en estudio; Eref representa la eficiencia de la amplificación del gene de referencia; ΔCPtarget es la diferencia del Ct del control menos la muestra del gene en estudio; y ΔCPref es la diferencia en Ct del control menos la muestra del gen de referencia. Como se mencionó, en este modelo también es necesario conocer la eficiencia de amplificación de cada gen estudiado.



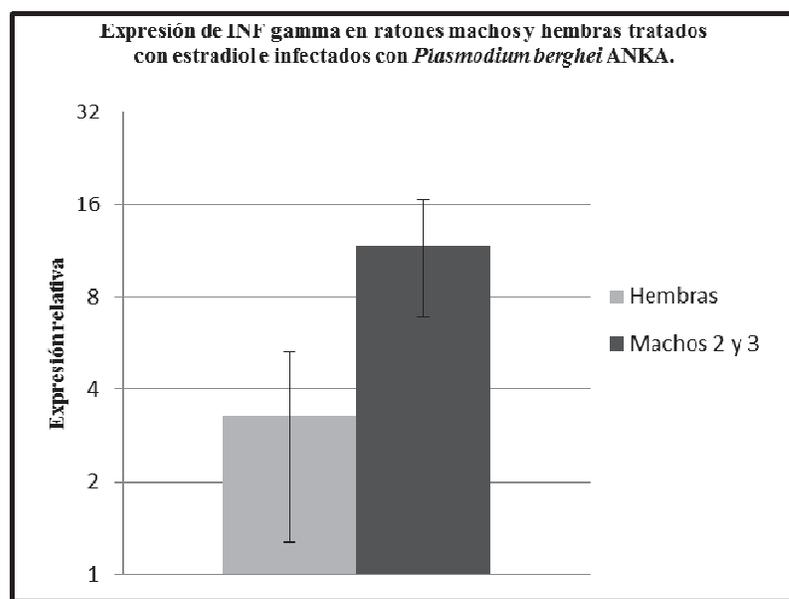
2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Las eficiencias de las amplificaciones por PCR en tiempo real se calcularon a partir de las pendientes de la curva estándar obtenidas después de realizar diluciones seriadas de una muestra positiva (Pfaffl, 2004) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$E=10[-1/pendiente]-1.$$

Resultados.



Discusiones y conclusiones.

El principal motivo para tratar de entender los mecanismos que regulan la respuesta inmune en malaria es la necesidad de desarrollar vacunas eficaces contra esta enfermedad. Debido a que pese a los esfuerzos realizados esta enfermedad sigue siendo un problema de salud pública a nivel mundial.

A pesar de que han pasado muchos años desde que se conoce que los humanos pueden ser inmunes a la malaria los mecanismos que generan esta inmunidad aún no se han entendido completamente. Esto es atribuible a la complejidad del Plasmodium y su ciclo de vida. La respuesta inflamatoria de tipo celular generada por la infección con Plasmodium induce la liberación de citocinas pro-inflamatorias como el interferón gamma por los linfocitos T que



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

activa a los macrófagos, los cuales sintetizan especies reactivas del oxígeno conducen a la muerte del parásito. Las citocinas pro-inflamatorias constituyen una parte muy importante en la respuesta inmune contra la malaria. Se conoce que el IFN- γ citocina pro-inflamatoria muy importante en la eliminación del *Plasmodium*, se regula por el estradiol lo que da origen a un fenómeno conocido como dimorfismo sexual. Debido a este fenómeno los síntomas de esta enfermedad son más severos en hombres que en las mujeres. En el presente trabajose estudió el efecto del estradiol sobre los mecanismos inmunes de malaria.

Utilizamos técnicas de biología molecular para medir la expresión de IFN- γ en ratones de la cepa CBA/Ca tratados con estradiol, un grupo se infectó con *Plasmodium berghei* ANKA. Se extrajo RNAm de los hígados de estos ratones, se retrotranscribió y el DNAc obtenido se utilizó para medir la expresión de IFN- γ con la técnica de PCRq. Los resultados obtenidos se analizaron con el método $\Delta\Delta Ct$ y se graficaron en Excel. En estos experimentos se evaluó la diferencia significativa entre la expresión de IFN- γ en hembras infectadas tratadas con estradiol y machos infectados tratados con estradiol, utilizando como grupo control hembras y machos tratados con estradiol sin infección. En los resultados se observó un incremento en la expresión de IFN- γ en machos tratados comparados las hembras tratadas. Estos resultados demuestran el efecto inductor del estradiol sobre la expresión de IFN- γ .

Agradecimientos.

Agradecemos a la Dra. Martha Legorreta Herrera Profesora de Carrera Titular “C” y T.C. del Laboratorio de Inmunología Molecular-División de Investigación y Posgrado FES Zaragoza, al programa Delfín, al programa UAGro, a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza-UNAM y ala Universidad Autónoma de Guerrero por el apoyo recibido para llevar acabo la estancia de verano de investigación durante los meses de julio y agosto del 2014.

Referencias.

- Cabantous, S, Poudiougou, B, Traore, A, Keita, M, Cisse, MB, Doumbo, O, Dessein, AJ and Marquet, S (2005). Evidence that interferon-gamma plays a protective role during cerebral malaria. *J Infect Dis* 192(5): 854-860
- De León-Nava. M., Morales-Montor. J. (2006). Immune sexual dimorphism: Can sex steroids affect the Th1/Th2 cytokine profile? *Rev. invest. clín...* 58 (2): 300-312.
- Fox HS, Bond BL, Parslow TG. (1991). Estrogen regulates the IFN- γ promoter. *J Immunol.* 146: 4362-7.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

García- Crespo, D. (2006), Desarrollo de métodos moleculares y su aplicación al estudio de la resistencia genética y patogenia molecular del Scrapie, Universidad del País Vasco, ISBN 84-457-2142-9.

Gómez-Marrugo. D., Suarez-Causado. A., Moneriz-Pretell. C. (2013). Cytokines profile and antibodies in response to Plasmodium vivax infection in a population of the south Bolivar, Colombia. *Revista de Ciencias Biomedicas*. 4(1): 2215-7840.

Hernández A., Vasallo, M., Torres, A. y Salido, E. (1995). Análisis del RNA: Estudio de la expresión génica. *NEFROLOGIA*. Vol. XV. Suplemento 2.

Merino. F. Respuesta Inmunologica en la Malaria. (1987). Departamento de Medicina Experimental Instituto Venezolano de Investigación Científicas. 4(1): 101-114.

Pfaffl, M.W. 2004. Quantification Strategies in Real-Time PCR. In: *A-Z of Quantitative PCR* S.A.Bustin, editor. International University Line. LA Jolla, p. 87-120.

Robinson, LJ, D'Ombain, MC, Stanistic, DI, Taraika, J, Bernard, N, Richards, JS, Beeson, JG, Tavul, L, Michon, P, Mueller, I and Schofield, L (2009). Cellular tumor necrosis factor, gamma interferon, and interleukin-6 responses as correlates of immunity and risk of clinical Plasmodium falciparum malaria in children from Papua New Guinea. *Infect Immun* 77(7): 3033-3043

Zabaleta - Vanegas, M. Yaya - Lancheros, M.L., Chaparro - Giraldo, A. (2008). Comparación de dos kits de RT-PCR en la detección de ARNm de dos genes endógenos de papa (*Solanum tuberosum* spp. Andígena). *Rev. colomb. biotecnol.* 10:2. 104-110.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

La exposición a Fluoruro de Sodio (NaF) regula la expresión de los transportadores GLAST y SNAT3 en células de Bergmann

David Dorantes Palma (Becario Programa UAGro)

sebastianuchis@gmail.com

Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Arturo Ortega Soto (asesor)

aortega@cinvestav.mx

Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional

Resumen

El Flúor se encuentra de manera natural en el ambiente y en las capas superficiales de la corteza terrestre, en forma de fluorita o fluoruro de sodio, la ingesta de agua contaminada por fuentes geológicas es la principal fuente de exposición por flúor. En el cerebelo, el glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central, cuando se encuentra de manera exacerbada causa excitotoxicidad, por lo tanto tiene que ser removido por transportadores específicos de glutamato que están presentes en las células gliales de Bergmann, como el transportador de glutamato GLAST y exportado al espacio extracelular por el transportador SNAT3. En este estudio se trabajó con cultivos de células de Bergmann que fueron suprimidos, posteriormente se estimularon por diferentes tiempos con NaF (5, 15, 30 y 60 min), después del estímulo, se cosechan para la posterior lisis del paquete celular y la cuantificación de proteínas. Se realiza una inmunodetección en fase sólida (Western Blot), para la inmunodetección se trabajó con anticuerpos (anti-GLAST, anti-SNAT3 y Anti-Rabbit). Los resultados sugieren que la neurotoxicidad del flúor, está asociada a un decremento transitorio en la síntesis proteica en las células más abundantes del sistema nervioso: las células gliales. Hay evidencia de que la presencia de este xenobiótico en el tejido cerebral disminuye la síntesis de proteínas, proceso celular de alta demanda energética; es por ende que en este proyecto de investigación, se evaluará el efecto que tiene el Flúor en la expresión de los transportadores GLAST y SNAT3.

Palabras Claves: Flúor, neurotóxicos, xenobiótico, células gliales de Bergmann, proteínas.



Introducción

El flúor es el halógeno más abundante en la corteza terrestre, con una concentración de 950 ppm. En el agua de mar este se encuentra en una proporción de aproximadamente 1.3 ppm. Este elemento no se encuentra en estado libre, sino en forma de fluoruro. El fluoruro se encuentra en muchos materiales como carbón y arcilla. Estos pueden ser liberados al aire cuando son calentados a temperaturas altas, como es el caso de las fundidoras de aluminio, vidrio, ladrillos, materiales para azulejo y fábricas de plástico (ATSDR, 2007). Los *mecanismos de toxicidad del Flúor*, aunque el mecanismo de acción del fluoruro en el Sistema Nervioso Central (SNC) se desconoce, hay estudios en donde se relaciona con alteraciones en la neurotransmisión y en la destrucción del tejido neuronal (Basha *et al.*, 2011). Se sabe que alrededor de 20 millones de personas pueden estar expuestas a este compuesto y que esto está asociado a efectos tóxicos sobre el sistema nervioso. Hay evidencia de que la presencia de este xenobiótico en el tejido cerebral disminuye la síntesis de proteínas y causa degeneración neuronal, lo cual podría ser mediante la regulación de la traducción. Se sabe que la regulación traduccional puede ser a nivel del inicio, elongación y terminación. Sin embargo, la regulación a nivel elongación es rápida y con gasto energético bajo, por lo que podría ser un blanco del fluoruro. Otro posible mecanismo de acción mediante el cual el fluoruro puede estar actuando a nivel neuronal es afectando el proceso de la traducción.

Glutamato; el glutamato (Glu) es el principal neurotransmisor excitador del SNC de vertebrados. Participa en la transmisión sináptica excitadora y de muchas formas de plasticidad sináptica que se cree están implicadas en los procesos de aprendizaje y memoria (Hsieh *et al.*, 2006). Este aminoácido está distribuido ampliamente en el cerebro y actúa mediante receptores que se encuentran expresados tanto en células gliales y neuronas (Garattini, 2000). *Toxicidad de glutamate*, aunque el Glu es un aminoácido esencial para una adecuada neurotransmisión, los niveles elevados de este en el espacio extracelular pueden tener efectos tóxicos en el SNC como; excitotoxicidad y degeneración neuronal (Garattini, 2000). Por lo anterior, es importante que las concentraciones de Glu sean reguladas. Se sabe que este sistema se encuentra presente tanto en neuronas como en células gliales (Rothstein *et al.*, 1994).

Células Gliales de Bergmann; el sistema nervioso está constituido por dos tipos de células: neuronas y células gliales (CG). Las CG son exclusivas de la capa molecular del cerebelo, se encuentra rodeando las sinapsis glutamatérgicas formadas entre las fibras paralelas y las células de purkinje (Somogyi *et al.*, 1990; Yang *et al.*, 2008). Las características tan particulares que poseen convierten a las células GB en un buen modelo de estudio debido a que son importantes durante la neurotransmisión, así como en la maduración neuronal. Por lo tanto el estudiar el efecto de la exposición a fluoruro en estas células en particular permitirá conocer el posible mecanismo y los blancos de este neurotóxico, ya que al dañar a este tipo de células se puede comprometer la integridad neuronal y de esta forma afectar la capacidad cognitiva. Esto es relevante ya que como se ha mencionado, las células GB son las más abundantes del SNC, en una relación de 10:1 con respecto a las neuronas. También se ha demostrado que un defecto en este tipo celular se relaciona con diversas patologías neurodegenerativas. Esto debido a la deficiencia en los sistemas de captura de Glu, ya que la glia es uno de los principales tipos celulares responsables de la captura del Glu extracelular.

Metodología

Supresión de Células Gliales; Suprimir las células con suero fetal al 0.5 % en medio Opti-Mem (2 ml por caja p-60). Se incuban 2 h a 37 °C a 4.8 % de CO₂, en 11 mL de Assay buffer se coloca 110 µL de NaF 50 mM, para el



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

estímulo. Pasada las 2 h de incubación, se retira el medio de supresión de supresión., estimular en diferentes tiempos en las cajas p-60, el control, 5´ minutos, 15´ minutos, 30´ minutos y 60´ minutos, se añade el NaF (Fluoruro de sodio) en los diferentes tiempos y se queda por el tiempo establecido. Pasado el tiempo de estímulo de cada una de las cajas se retira de forma inmediata y se coloca el assay buffer, las cajas se dejan incubando por un tiempo de 2 horas a 37 °C en incubadora a 4.8 % de CO₂. Después de haber pasado las 2 h de incubación, Se le retira el assay buffer y se le coloca inmediatamente el Buffer de fosfatos salino (PBS) con inhibidores PMSF (Fluoruro de Fenil Metils Sulfonilo) frío un mililitro en cada caja de (5, 15, 30 y 60 min). (Por cada ml de PBS, se agrega 10 µL de PMSF). Se raspa con el cosechador para bajar todas las células, se retira todo con una micropipeta y se coloca en un tubo de 1.5. Centrifugar a las células por 7 minutos a 13,000 rpm a 4°C y tomar el pellet.

Lisis celular; a las células se le coloca la solución de lisis, centrifugar a 13,000 rpm durante 7 minutos a 4 °C. Se recupera el sobrenadante y cuantificar las proteínas por el método de Bradford. Se hace el cálculo para cargar 50µg de proteína con sample buffer 3X, después mezclar con simple buffer 3X se hirvieron por 5 minutos para que se desnaturalicen.

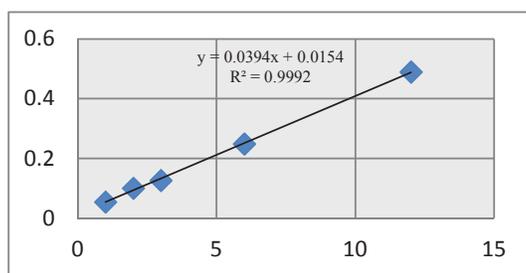
Electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% en presencia de SDS (SDS-PAGE); se hace la mezcla de los reactivos para el gel separador al 15 % y gel (“stacking”). Se prepara el gel separador y se pone el vidrio hasta el tope, se coloca alcohol encima para hacer el gel homogéneo. Esperamos a que gelifique por 10 minutos, pasado el tiempo de gelificación, por decantación se le tira el alcohol y se seca, y se procede a realizar la mezcla del gel concentrador, se coloca en la parte de arriba del separador y de forma inmediato se le coloca el peine, y esperamos a que gelifique por 4 minutos, se retira el peine y se pone agua destilada a presión para evitar que se tapen los pozos, se cargan las muestras en los diferentes pozos, ya con la concentración de proteínas, sample buffer 3x hervidas previamente, se deja un carril para el marcador de peso molecular que se colocara hasta el final en este caso de 6500 a 20500 Da, ya cargadas las muestras se tapa y se acomoda del modo correcto el polo positivo (rojo) con positivo y negativo (negro) con negativo. Posteriormente correr las muestras a 100 V a voltaje constante por 1 hora y media aproximadamente en buffer de corrida. Después de haber pasado el tiempo de corrida se procede a realizar la transferencia en membranas de nitrocelulosa, se retiran los geles y nos quedamos con el gel separador, que se colocara en forma de sandwich entre la membrana, esponja y filtros que se humedecen previamente en buffer de transferencia, se coloca en el casete de transferencia primeramente la esponja y el filtro del lado negativos, después el gel y luego la membrana, por ultimo un filtro y una esponja simulando un sándwich, se coloca en la cámara de transferencia y transferir el gel a 140 Am a un amperaje constante por un tiempo de 2 horas en buffer de transferencia frío. Terminada la transferencia de hace la captura de la fotografía y se tiñe con el rojo de ponceau, bloquear la membrana 1 hora para SNAT3 y GLAST con leche descremada al 5% en 20 ml, después del bloqueo lavar las membranas con TBS Tween 0.01%. 3 lavados por membrana de 10 minutos, incubar con anticuerpo primario GLAST (1:1000) y SNAT3 (1:1000) toda la noche a 4°C. 30. Incubar con el anticuerpo secundario anti-rabbit (1:4000) por 2 horas a temperatura ambiente, después de incubar con anticuerpos lavar las membranas con TBS Tween 0.01%. 3 lavados por membrana de 10 minutos, colocar 150 µl de luminol a cada membrana para el revelado.

La cuantificación de proteínas se hizo por el método de Bradford, como se muestra en la gráfica 1



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



Gráfica 1. Curva de calibración por el método de Bradford

Tabla 1. Cuantificación de proteínas por muestra

Muestra	Abs Pro	Abs1	Ab2	[Proteína]	[Proteína]ug/ul	Muestra	para 50ug
Ctl	0.634	0.634	0.634	15.7005076	7.85025381	Ctl	3.82153249
5'	0.4955	0.492	0.499	12.1852792	6.09263959	5'	4.92397417
15'	0.4375	0.448	0.427	10.713198	5.35659898	15'	5.60056859
30'	0.295	0.288	0.302	7.0964467	3.54822335	30'	8.45493562
60'	0.5635	0.576	0.551	13.9111675	6.95558376	60'	4.31308155
Ctl	0.344	0.352	0.336	9.13351499	9.13351499	Ctl	5.47434368
5	0.419	0.43	0.408	11.1771117	11.1771117	5	4.4734276
15	0.3605	0.374	0.347	9.58310627	9.58310627	15	5.21751493
30	0.371	0.359	0.383	9.86920981	9.86920981	30	5.06626173
60	0.3935	0.415	0.372	10.4822888	10.4822888	60	4.76995061



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Resultados

Se muestran los resultados obtenidos en este proyecto en las siguientes figuras 1, 2 y 3.



Figura 1. Tinción con rojo de Ponceau. Se observa la visualización de las bandas con la misma intensidad lo que confirma que se carga la misma cantidad de proteína en cada carril.

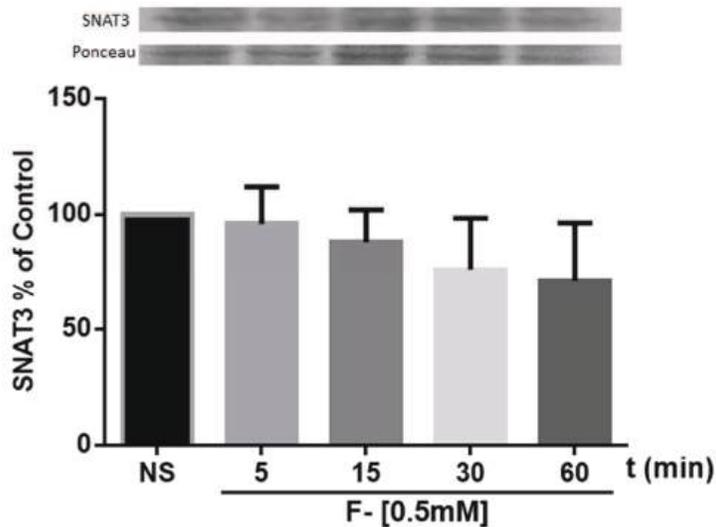


Figura 2. Expresión de GLAST en diferentes tiempos. Se observa la expresión del transportador GLAST en diferentes tiempos con NaF (0.5mM), donde se muestra que a 30 minutos hubo una mayor expresión.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

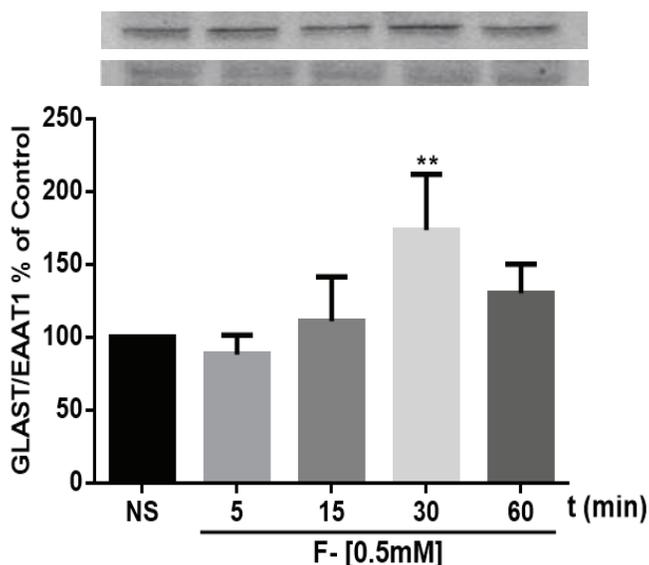


Figura 3. Expresión de SNAT3 en diferentes tiempos. Se observa la expresión del transportador SNAT3 en diferentes tiempos con NaF (0.5mM), donde se muestra que disminuye por conforme pasa el tiempo de exposición.

Discusiones y conclusiones

En este trabajo observamos que la exposición a concentraciones de 0.5mM (9.5 ppm) de fluoruro de sodio afecta a los transportadores GLAST y SNAT3 en células GB. Existen varios estudios que han descrito los efectos neurotóxicos asociados con la exposición a fluoruro en diversos modelos y gran parte de su toxicidad tiene como blanco áreas relacionadas con la función cognitiva (Paul *et al.*, 1998; Ding *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2011). En la exposición a este contaminante ambiental es posible su acumulación en diversos órganos. En el estudio de Inkielewicz y Krechniak, (2003) realizado en ratas que ingirieron agua con 25 ppm durante 12 semanas se puede apreciar que comparativamente con las ratas control, en las ratas expuestas se observó un incremento significativo en la concentración de fluoruro de 11.8, 8.5, 7.5, 6.7, 5.1 y 1.8 veces en testículos > cerebro> riñón> hígado > orina > suero, respectivamente. La concentración promedio presente en el homogenado de cerebro de rata expuesta a fluoruro fue de



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

5.8 ppm. La concentración de fluoruro empleada en el presente estudio está acorde a los niveles de concentraciones encontrados en muestras biológicas de rata y de poblaciones humanas expuestas a fluoruro, por lo que el estudio de los efectos que provoca es relevante biológicamente. En este proyecto se siguen llevando a cabo distintos experimentos para evaluar el efecto del Flúor. En los experimentos que se han realizado a la fecha se ha observado que existe una modificación en la expresión de los transportadores GLAST y SNAT3 y por tanto en la regulación de los niveles de glutamato.

Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), que abre sus puertas a alumnos que tienen la iniciativa de abrir pasó la investigación. Al Dr. Arturo Ortega, a quien admiro como investigador, por haberme dado la aceptación y oportunidad de ser parte de su grupo de trabajo este verano, de quien he aprendido a ver más allá de lo evidente. Gracias por compartir conmigo su experiencia e inculcarme no solo la disciplina y el trabajo, si no la convivencia con mis compañeros. A los auxiliares, M.C. Luisa Clara Hernández Kelly y el IBQ Luis Ángel Cid, pertenecientes al laboratorio 31 del Departamento de Toxicología, por su valiosa asistencia y apoyo técnico durante el desarrollo de este proyecto. A la IBQ. Alma Nely Alamillo Iniesta, M.C. Orquídea Méndez Flores y M.C. Jeannett Hernández Castillo, del Laboratorio 31 del Departamento de Toxicología por sus aportaciones y el apoyo técnico para la realización de las técnicas de cuantificación de proteínas, SDS-PAGE, y diversas técnicas empleadas en este trabajo.

Referencias

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)** (2003). "Toxicological Profile for Fluorides Hydrogen Fluoride and Fluorine". U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Basha P. M., Rai P., et al.** (2011). "Fluoride Toxicity and Status of Serum Thyroid Hormones, Brain Histopathology, and Learning Memory in Rats: A Multigenerational Assessment." *Biological Trace Element Research*.
- Garattini S.** (2000). "Glutamic acid, twenty years later." *J Nutr* 130(4S Suppl): 901S-909S.
- Hsieh, H., Boehm J., et al.** (2006). "AMPA removal underlies Abeta-induced synaptic depression and dendritic spine loss." *Neuron* 52(5): 831-843.
- Inkielewicz I, Krechniak J., et al.** (2003). "Fluoride content in soft tissues and urine of rats exposed to sodium fluoride in drinking water". *Fluoride*. 36:263-266.
- Paul V., Ekambaram P., et al.** (1998). "Effects of sodium fluoride on locomotor behavior and a few biochemical parameters in rats." *Environ Toxicol Pharmacol* 6(3): 187-191.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Formación de dispersiones sólidas de Ibuprofeno-PEG4000 utilizando calentamiento por microondas

Alma Karina Estrada Castro (Becario Programa UAGro)

q.a.r.i@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Efrén Hernández Baltazar (Asesor)

efrenhb@uaem.mx

Investigador de Tecnología Farmacéutica. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Resumen

Las dispersiones sólidas (DS) son una alternativa para aumentar la velocidad de disolución de fármacos poco solubles, con el uso de calentamiento por microondas que sustituye el calentamiento convencional permitiendo el calentamiento homogéneo de la muestra sin afectar la estructura molecular. El objetivo de éste estudio fue formar dispersiones sólidas de Ibuprofeno-Polietilenglicol 4000 (PEG4000) utilizando calentamiento por microondas y comparar sus propiedades con las mezclas físicas. Se usaron diferentes composiciones de Ibuprofeno y de PEG4000 para DS y mezclas físicas, se evaluó la dureza en el durómetro Schleuniger, la velocidad de desintegración en el desintegrador y altura utilizando un vernier digital. Los resultados mostraron que las dispersiones sólidas no alteran la densidad de los materiales, disminuyen la resistencia mecánica y aumentan la velocidad de desintegración en comparación con las mezclas físicas. El calentamiento de microondas es directamente proporcional al elevar la potencia y es un método eficaz para formar las dispersiones sólidas. En el diagrama de fases se encontró un punto eutéctico cercano al 20% de ibuprofeno.

Palabras clave: Dispersiones sólidas, velocidad de disolución, ibuprofeno, calentamiento por microondas.

Introducción

En el sistema de clasificación de biofarmacéutica (BCS), los fármacos pueden dividirse en cuatro clases, dependiendo de su solubilidad y permeabilidad. Los fármacos que pertenecen a la clase II se caracterizan por baja solubilidad y alta permeabilidad (Moneghini, *et al.*, 2008). Junto con la permeabilidad, el comportamiento de solubilidad de un fármaco es un factor determinante de la biodisponibilidad (Leuner, *et al.*, 2000), el ibuprofeno es un fármaco muy poco soluble en agua y muy permeable a las membranas biológicas, por tanto la preocupación de mejorar su solubilidad. En la actualidad, existen métodos para mejorar la velocidad de disolución de fármacos con baja solubilidad, uno de estos es la formación de dispersiones sólidas (DS) a base de complejos de ciclodextrina de inclusión, polivinilpirrolidona y polietilenglicoles 4000 y 6000 (Moneghini, *et al.*, 2008). El término dispersiones



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

solidas se refiere a un grupo de productos solidos consistentes de dos pequeños componentes diferentes, generalmente una matriz hidrofílica y un fármaco hidrofóbico. La matriz puede ser cualquiera de los dos o cristales o amorfos. El fármaco puede ser una molécula dispersa, en partículas amorfas (grupo) o en partículas cristalinas (Dhirendra K, *et al.*, 2008). Las DS son sistemas en los cuales la liberación del fármaco es mayor a la liberación obtenida a partir de una formulación convencional. Esto se debe principalmente, a que las partículas en una DS tienen una mayor superficie específica (menor tamaño de partícula) y, en consecuencia, presentan una mayor velocidad de disolución (Castro, 2008). Recientemente se ha incorporado el uso del calentamiento por irradiación de microondas para la preparación de DS. Las microondas sustituyen al calentamiento convencional, es decir, la conducción, convección o la radiación con luz infrarroja. La irradiación por microondas ofrece varias ventajas, tales como: calefacción volumétrica rápida, sin sobrecalentamiento en la superficie, permiten la producción de calor en cualquier punto de la muestra al mismo tiempo sin afectar la estructura molecular, ahorro de energía y bajo costo operativo. La principal ventaja de no utilizar disolventes orgánicos es la ausencia de cualquier riesgo procedente de residuos de disolventes. El objetivo de éste estudio es formar dispersiones sólidas de Ibuprofeno-Polietilenglicol 4000 utilizando calentamiento por microondas y comparar sus propiedades con las mezclas físicas.

Metodología

Curva de calentamiento del agua; se pesaron 100 g de agua y se registró la temperatura con un termómetro infrarrojo digital. Se sometió a calentamiento durante 2 minutos en el horno de microondas a potencia de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100. Se registró la temperatura inmediatamente.

Mezclas físicas y dispersiones sólidas; se usaron diferentes composiciones de Ibuprofeno y de PEG4000: 80/20, 60/40, 40/60 y 20/80 para DS y mezclas físicas. Las dispersiones sólidas fueron sometidas a calentamiento por radiación de microondas a potencia de 30 en tiempos diferentes por cada composición hasta formar una solución, se solidificó y se trituró. De las mezclas físicas y las DS se elaboraron 10 tabletas de 500 mg y se evaluó la dureza en el durómetro, la velocidad de desintegración en el desintegrador a 37°C y la altura usando un vernier digital. Se compararon las DS y mezclas físicas.

Diagrama de fases; Se fundió lentamente en una parrilla eléctrica una muestra de las DS de composición 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 20/80 y 10/90, se registró la temperatura de fusión y se elaboró el diagrama de fases buscando el punto eutéctico. También se registró la temperatura de fusión del ibuprofeno y del PEG4000.

Resultados

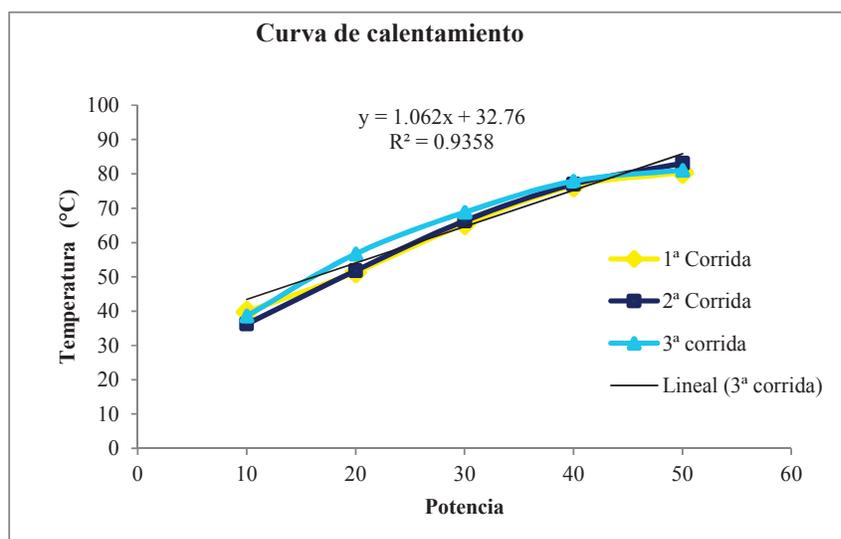
Tabla 1. Datos de las temperaturas del agua a potencias de 10, 20, 30, 40 y 50, en el tiempo de 2 minutos.

Potencia	1ª Corrida (°C)	2ª Corrida (°C)	3ª corrida (°C)	Promedio (°C)
10	39.8	36.2	38.6	38.2
20	51.4	51.8	56.7	53.3
30	65.4	66.3	68.8	66.8
50	80.4	83.1	81.1	81.5



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



Gráfica 1. Curva de calentamiento.

Tabla 2. Espesor de las tabletas de las mezclas físicas y las DS.

Mezcla ibuprofeno/PEG 4000	Potencia/tiempo	Temperatura (°C)
80/20	30, 3 min; + 30, 2 min; + 30, 2 min	80.2
60/40	30, 3 min; + 30, 30 s.	85.1
40/60	30, 3 min	102.5
20/80	30, 3 min; + 30, 30 s.	115



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

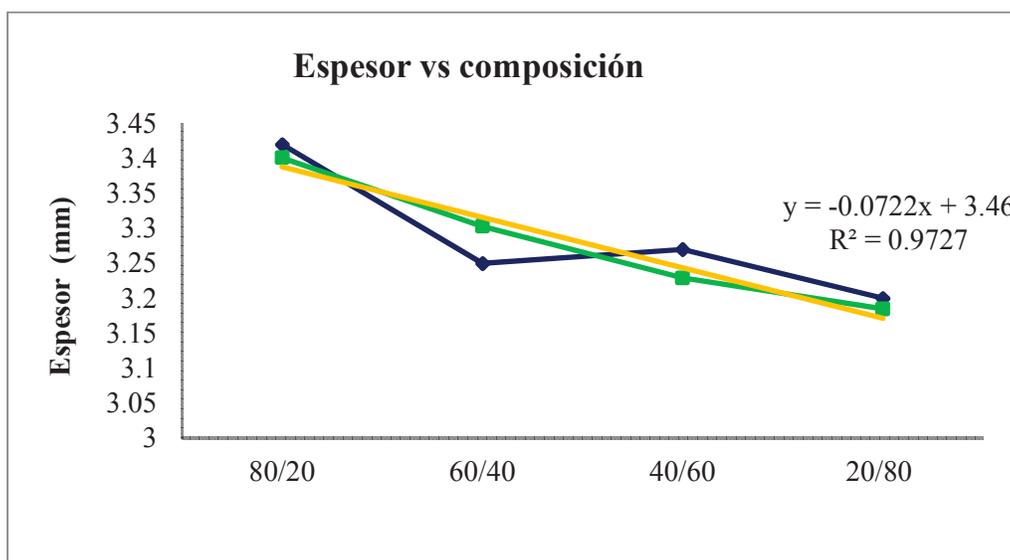


Gráfico 2. Espesor contra composición de las mezclas físicas y las DS.

Concentración fármaco-polímero	Mezclas físicas (kp)	Dispersión sólidas (kp)
80/20	11.34	9.52
60/40	12.06	10.16
40/60	10.68	7.88
20/80	8.5	7.9
\bar{x}	10.64	8.86
σ	± 1.537	± 1.15

Tabla 3. Comparación de la dureza de las mezclas físicas y las DS en kilopond (kp).



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

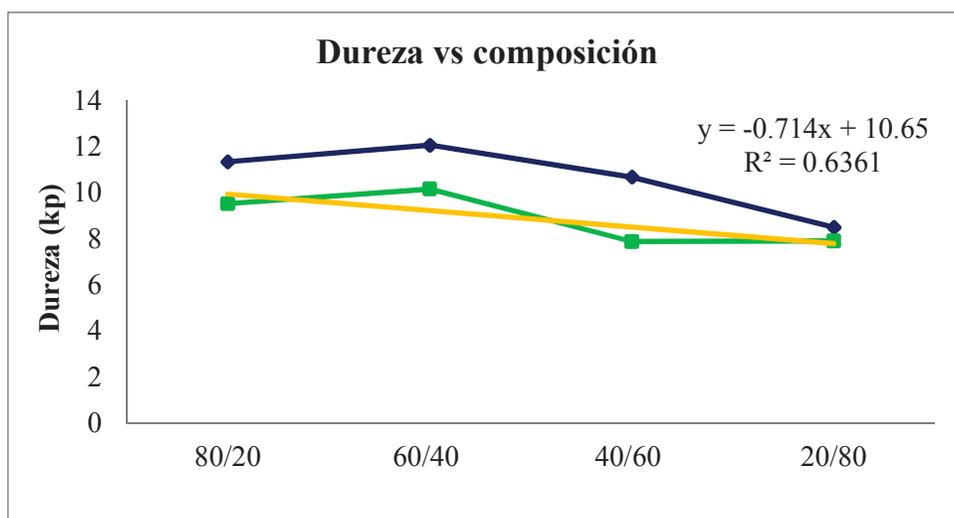


Gráfico 3. Dureza contra composición de las mezclas físicas y las DS.

Concentración farmacopolímero	Mezclas Físicas %	Dispersiones sólidas %
80/20	0	0
60/40	5	80
40/60	30	60
20/80	40	70
\bar{x}	18.75	52.5
σ	±19.31	±35.93

Tabla 4. Las pruebas de desintegración se realizaron en el desintegrador de tabletas a temperatura de 37°C.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

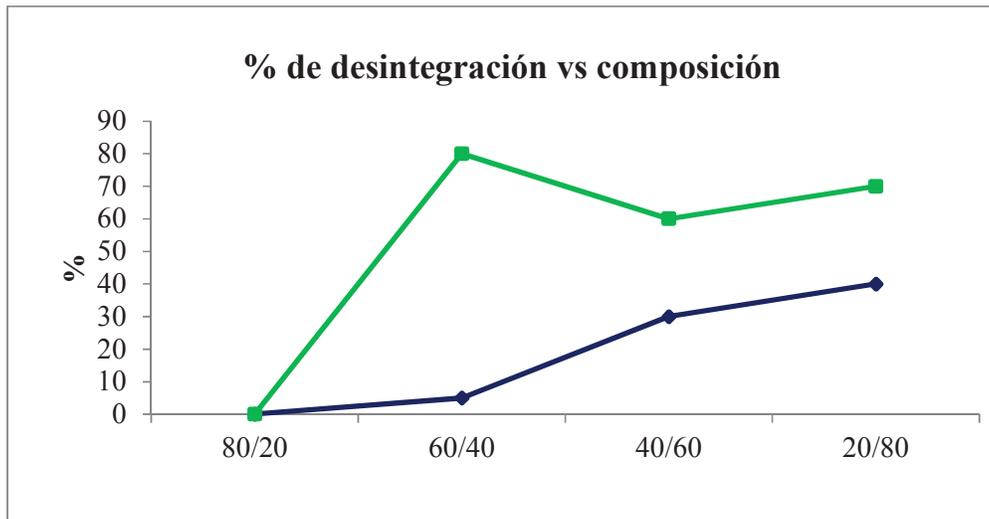


Gráfico 4. Porcentaje de desintegración contra composición de las mezclas físicas y las DS.

Composición Ibuprofeno/PEG 4000	Temperatura °C
90/10	66.8
80/20	69
70/30	58
60/40	54.7
50/50	51
40/60	46.3
30/70	44.9
20/80	41
10/90	49

Tabla 5. Punto de fusión de las diferentes concentraciones de las dispersiones sólidas de Ibuprofeno y de PEG.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

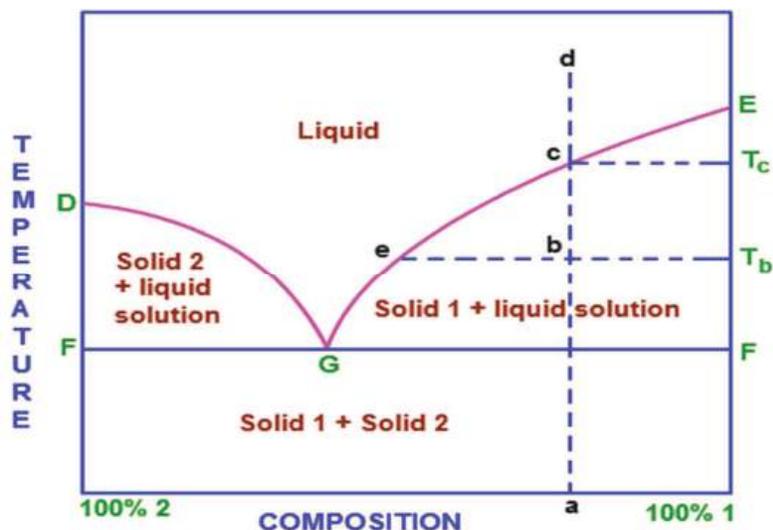


Figura 1. Ejemplificación de un diagrama del punto eutéctico de una mezcla de dos sólidos donde el punto eutéctico es el punto de fusión más bajo que se obtiene marcado con la letra G.

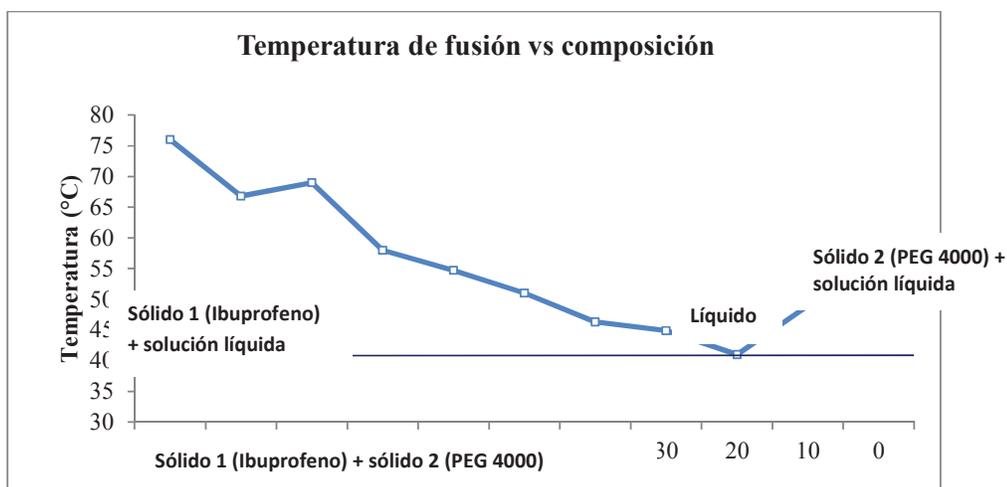


Gráfico 5. Diagrama de fases de las dispersiones sólidas de diferentes composiciones, el punto eutéctico está cercano al 20% de ibuprofeno.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Discusión y conclusiones

En la curva de calentamiento del agua a diferentes potencias usando microondas se observa que el calentamiento es proporcional al aumentar la potencia. Esto se comprueba al hacer pasar la línea de tendencia de cualquiera de las curvas y tienen una r cuadrada cercana a uno. La reproducibilidad del calentamiento se puede observar al ver que las gráficas están prácticamente superpuestas y esto se puede medir con la desviación estándar a cada potencia empleada.

Las condiciones de calentamiento para obtener las dispersiones sólidas fueron superiores a los puntos de fusión reportados para ibuprofeno (75 a 77 °C) y del PEG 4000 (50 a 58 °C). Sin llegar a degradar al Ibuprofeno. Y si se alcanzaba a formar una solución después del calentamiento. El espesor de las dispersiones sólidas y de las mezclas físicas fue prácticamente el mismo, por lo que se puede suponer que el tratamiento con microondas no modificó la densidad de los materiales. La dureza de las dispersiones sólidas disminuyó por lo que tienen menor resistencia mecánica que las mezclas físicas. Y en consecuencia se esperaba que se disolvieran más rápidamente. La prueba de tiempo de desintegración no fue aceptada, ya que tanto las dispersiones sólidas como las muestras físicas no pasaban la prueba y se fijó un tiempo límite para determinar el grado de desintegración en una hora. En ese tiempo las dispersiones sólidas presentaron mejor desintegración que las mezclas físicas. Y eso indica claramente que para poder darse en forma de tabletas van a requerir la presencia de un desintegrante para que el fármaco pueda estar en contacto con el fluido biológico. En el diagrama de fases muestra los puntos de fusión de las DS en donde el punto eutéctico puede estar cercano al 20% de ibuprofeno.

Agradecimientos

A la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por permitir realizar mi estancia en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica y especialmente al Dr. Efrén Hernández Baltazar, profesor e investigador de Tecnología farmacéutica y quien está a cargo de este laboratorio, por su disposición, enseñanzas y preocupación para llevar a cabo el proyecto. A los coordinadores del Verano UAGro, por el apoyo económico que nos brindaron y así llevar a cabo un proyecto de investigación y facilitarnos la estancia fuera del estado.

Referencias

- Castro S., Allemandi D., Palma S.** (2008). Utilización de dispersiones sólidas como estrategia para aumentar la velocidad de disolución de fármacos. *Farmacotecnia*, 54, 24-29.
- Dhirendra K. Lewis S., Udupa N. A.** (2009). Solid dispersions: a review. *Mnipal College of Pharmaceutical Sciences*. 22, 234-246.
- Leuner, C., Dressman, J.** (2000). Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 47-60.
- Moneghinia, M., Bellicha, B., Baxab, p., Princiville, F.** (2008). Microwave generated solid dispersions containing Ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics*, 125-130.



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Formación de dispersiones solidas ranitidina/polietilenglicol 4000 usando calentamiento por microondas

Nikandra Sofía Mora Miranda (Becario Programa UAGro)

emgre_simgo@hotmail.com

Unidad Académica de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero

Dr. Efrén Hernández Baltazar (Asesor)

efrenhb@uaem.mx

Facultad de Farmacia. Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Resumen

El presente trabajo describe la comparación entre mezclas físicas (MF) y dispersiones solidas (DS) entre la Ranitidina HCl y el Polietilenglicol (PEG) 4000. Para realizar las DS se utilizó la energía de microondas para aprovechar las ventajas que tiene sobre el calentamiento convencional. Se realizó una curva de calentamiento por triplicado para evaluar el comportamiento de calentamiento en el horno de microondas. Se hicieron mezclas en proporciones 80/20, 60/40, 40/60 y 20/80 de ranitidina y PEG 4000 respectivamente, se elaboraron 10 tabletas con la tableteadora con manómetro para las MF y las DS de las cuales se evaluó la dureza con el durómetro Schleuniger, la altura con el vernier digital, y el tiempo de desintegración con el aparato de desintegración. Se intentó obtener el diagrama de fases calentando en la parrilla eléctrica distintas mezclas con distintos porcentajes de ranitidina. El calentamiento por microondas es lineal, reproducible y muy rápido. Las DS obtenidas presentaron mayor dureza y menor espesor. La ranitidina no forma DS con PEG 4000, pues se descompone al llevar a cabo el calentamiento y no se incorpora en el PEG fundido.

Palabras clave: Calentamiento por microondas, Dispersiones sólidas, Mezclas físicas

Introducción

Las dispersiones solidas (DS) son un producto de dos componentes, un acarreador hidrofílico y un fármaco hidrofóbico. (Dhirendra *et al*, 2009). Las cuales, se han utilizado como un medio eficaz para mejorar la velocidad de disolución y por lo tanto la biodisponibilidad de fármacos. (Singh *et al*, 2011). Para formar la DS se emplean diversos métodos como: el método de fusión, extrusión de fusión en caliente, método de disolvente, entre otros. (Dhirendra *et al*, 2009). Para obtener las DS por medio del método de fusión se ha aplicado la energía por microondas, por las ventajas sobre el calentamiento convencional, entre ellas calentamiento más homogéneo y veloz, mayor eficiencia y mayor eliminación de humedad. (Cuevas y Hernández, 2011). Como la ranitidina es un fármaco soluble y las DS ayudan a la solubilidad, en este caso se quiere observar si en fármacos solubles las DS actúan de manera favorable. Se evaluó el efecto de la temperatura y la composición en la formación de DS fármaco-polímero usando calentamiento



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

por microondas y se intentaron establecer las condiciones de calentamiento por microondas que permitan la formación de DS entre la Ranitidina y el PEG 4000.

Metodología

Diagrama de fases; se realizan 9 mezclas con distinto porcentaje de ranitidina (90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10%), realizar el calentamiento por microondas, colocar una muestra de DS en un vaso de precipitados, fundir la muestra de la DS en la parrilla, registrar temperatura, disolución con un solvente orgánico, realizar mezclas (80% ranitidina y 20% un acarreador), usar diferentes polímeros: Parteck M200, PVP K30, K90 y PEG 6000. A la mezcla agregarle alcohol hasta formar una pasta. Someter a calentamiento por microondas hasta que el solvente se evapore. (Fijar condiciones).

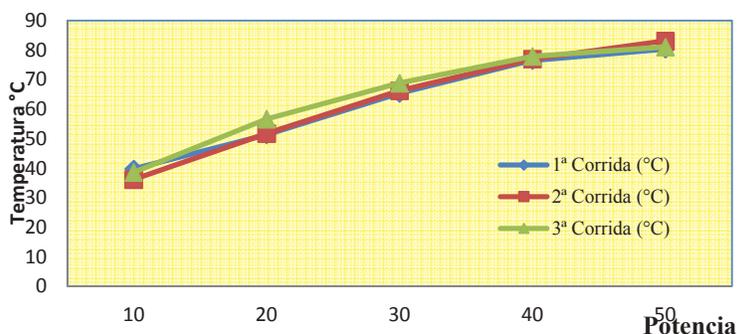
Fusión y disolución; pesar 80% ranitidina y 20% PEG 4000 para realizar mezcla, fundir el PEG 4000 por calentamiento en microondas, mezclar ranitidina y un solvente orgánico (alcohol) y someter a calentamiento hasta que el solvente se evapore.

Resultados

En la tabla 1 se muestra la curva de calentamiento de potencia

Tabla 1. Registro de temperaturas obtenidas para cada potencia en microondas

Potencia	1ª corrida (°C)	2ª corrida (°C)	3ª corrida (°C)
10	39.8	36.2	38.6
20	51.4	51.8	56.7
30	65.4	66.3	68.8
40	76.5	77.0	77.9
50	80.4	83.1	81.1



Grafica 1. Comportamiento de la temperatura relacionada al aumento de potencia.



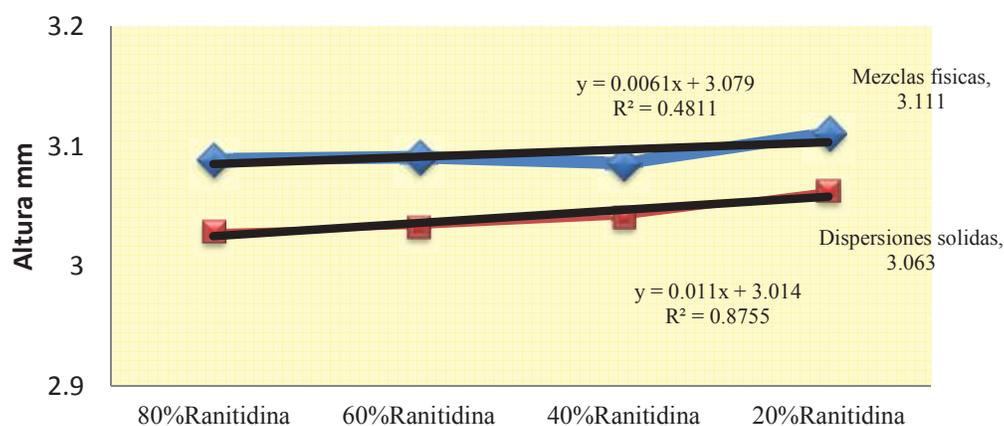
2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Mezclas físicas/Dispersiones sólidas, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Registro de las temperaturas obtenidas de las diferentes mezclas con distintas condiciones

Mezclas F/PEG	Temperatura	Condiciones
80 – 20	82 °C	Potencia 30/4 Min.
60 – 40	90 °C	Potencia 30/7:30 Min.
40 – 60	92.2 °C	Potencia 30/ 5:30 Min.
20 – 80	95.2 °C	Potencia 30/ 4:30 Min.

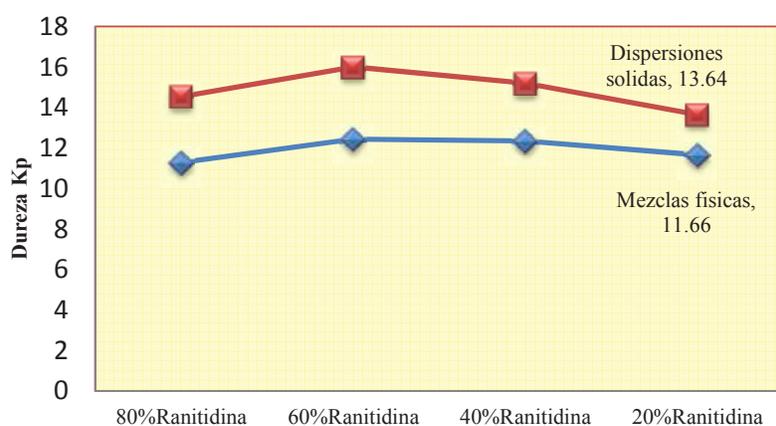


Grafica 2. Altura de las pastillas realizadas con MF y DS en relación al porcentaje de Ranitidina

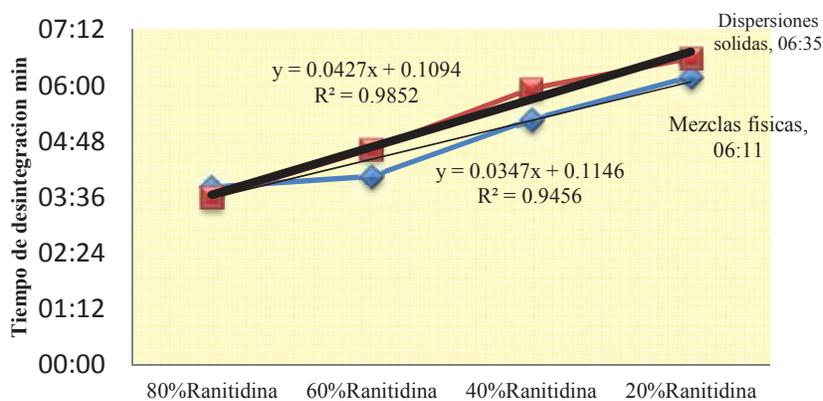


2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



Grafica 3. Dureza de las pastillas realizadas con MF y DS en relación alporcentaje de Ranitidina

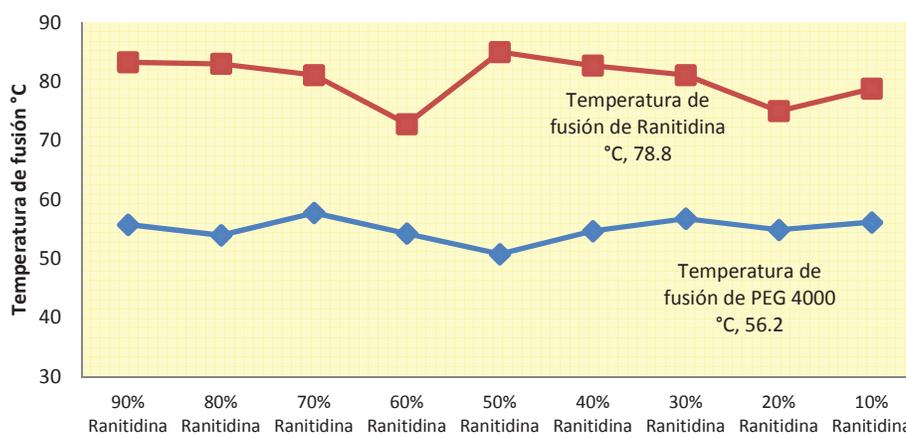


Grafica 4. Tiempo de desintegración de las pastillas realizadas con MF y DS en relación al porcentaje de Ranitidina



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias



Grafica 5. Temperaturas de fusión de los componentes de mezclas con distinto porcentaje de Ranitidina y PEG 4000

Tabla 3. Distintas condiciones y diferente cantidades de alcohol empleadas con diferentes polímeros.

Polímero	Condiciones	Gotas de alcohol
PVP K90	Potencia 20/ 42 seg	76 gotas
PEG 6000	Potencia 20/15 seg	69 gotas
PVP K30	Potencia 20/ 53 seg	59 gotas
Parteck M200	Potencia 20/ 25 seg	84 gotas



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

PVP K90



Figura 1. Izquierda, muestra una pasta formada por ranitidina, PVP K90 y alcohol. Derecha la mezcla después se someterse a calentamiento.

PEG 6000



Figura 2. Izquierda, muestra una pasta formada por ranitidina, PEG 6000 y alcohol. Derecha la mezcla después se someterse a calentamiento.



Fig. 3. Izquierda, muestra una pasta formada por ranitidina, PVP K30 y alcohol. Derecha la mezcla después se someterse a calentamiento.



Fig. 4. Izquierda, muestra una pasta formada por ranitidina, Parteck M2000 y alcohol. Derecha la mezcla después se someterse a calentamiento.

Discusión

En la curva de calentamiento del agua a diferentes potencias usando microondas se observa que el calentamiento es proporcional al aumentar la potencia. Esto se comprueba al hacer pasar la línea de tendencia de cualquiera de las curvas y tienen una r cuadrada cercana a uno. La reproducibilidad del calentamiento se puede observar al ver que las gráficas están prácticamente superpuestas y esto se puede medir con la desviación estándar a cada potencia empleada. Las condiciones de calentamiento para obtener las dispersiones sólidas fueron inferiores a los puntos de fusión reportados para ranitidina (130 °C) y del PEG 4000 (50 a 58 °C). En el estudio se llegó a degradar la ranitidina. Y no se alcanzaba a formar la dispersión sólida después del calentamiento. Por lo que se requiere buscar otra metodología para obtener las dispersiones. El espesor de las dispersiones sólidas y de las mezclas físicas fue diferente por lo que se puede suponer que el tratamiento con microondas modificó la densidad de los materiales obteniendo dispersiones más densas que las mezclas físicas. Al igual que en el espesor, se ve afectada la dureza de las nuevas composiciones y eso lleva a suponer que las tabletas serán más densas. Los resultados de tiempo de desintegración fueron muy semejantes por lo que no hay diferencia significativa entre los datos. El diagrama de fase



*2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014*

Memorias

muestra que no hubo modificaciones al variar la composición de las mezclas por lo que se puede suponer que no hay formación de la dispersión sólida. Además tuvimos problemas de estabilidad por la ranitidina que incluso cambio de color durante el calentamiento. Y se sugiere que se emplee otra metodología diferente que no degrade la molécula de ranitidina y que si permita la obtención de las dispersiones sólidas. Solo se formó una especie de suspensión. En las cuatro mezclas que se realizaron con diferentes polímeros se pudo observar que el polímero si se fundía pero la ranitidina no, en cuanto al solvente orgánico este se evaporaba pero al momento de hacerlo la ranitidina se quemaba. Se confirma que este método tampoco es el adecuado para que se realice una dispersión sólida con la ranitidina. Este fue el método que pudo hacer que una parte de la ranitidina se fundiera, pero de igual forma que en los anteriores métodos para realizar una dispersión sólida con la ranitidina, esta se quemó.

Conclusión

El calentamiento por microondas es lineal, reproducible y muy rápido. El método de fabricación de dispersiones sólidas por microondas es rápido, pero dependiente de la composición de las mezclas. Las dispersiones obtenidas presentan mayor dureza y menor espesor de las tabletas por lo que se modificó la dureza de dichas mezclas. Según los resultados obtenidos, además del diagrama de fase se concluye que la ranitidina no es una molécula que forme dispersión sólida con el PEG 4000. Por los datos de la literatura se supone que la ranitidina se descompone antes de alcanzar su punto de fusión, por lo que en las condiciones estudiadas no se formó la dispersión sólida.

Referencias

- Cuevas y Hernández.** (2011). El uso de las microondas en la industria farmacéutica. *Revista Mexicana de Ciencias farmacéuticas*, 42, 6-9.
- Dhirendra K., Lewis S. Udupa N. y Atin K.** (2009). Solid dispersions: a review. *Manipal College of Pharmaceutical Sciences*, 22, 234 – 237.
- Singh S., Singh B. R. y Yadav L.** (2011). A review on solid dispersion. *International Journal of pharmacy & life science*, 2, 1078-1089.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Riesgos y daños a la salud en las estudiantes de 20 a 25 años de edad del área de la salud

Mayra Rocio Hernández Hernández (Becario del programa UAGro)

mrhdez101193@gmail.com

Unidad Académica de Enfermería No.1 de la Universidad Autónoma de Guerrero

M.C. Mirna Eréndira Torres Castañón, Asesor:

mirnaerendirat@hotmail.com

Unidad Académica de Enfermería No.1 de la Universidad Autónoma de Guerrero

Resumen

Medir prevalencias de riesgos a la salud en una población de estudiantes de 20 a 25 años de edad del área de la salud. Es un estudio de tipo transversal, descriptivo. El instrumento utilizado fue una encuesta original autoaplicada, previamente validada por los autores y que se les aplicó a 334 estudiantes de 20 a 25 años del área de la salud. Se confeccionó una base de datos con la información de las entrevistas y se obtuvieron los porcentajes de las variables seleccionadas. De la encuesta realizada a 462 alumnas 334 pertenecen al grupo de edad entre 20 y 25 años estudiantes del área de la salud se encuentra que el 40.72% ah fumado alguna vez en su vida, el 84.13% consume alcohol y solo el 5.99% ah probado drogas alguna vez en su vida. Las alumnas del área de la salud presentan un alto riesgo y daños a la salud por lo que es conveniente realizar programas de intervención para evitar la deserción escolar en las unidades académicas relacionadas con la salud.

Palabras clave: riesgos, salud, estudiantes, adulto joven

Introducción:

La adultez es la llamada segunda edad de la vida del ser humano, incluye el final de la adolescencia por lo que no pueden verse aisladas una de otra, es el periodo comprendido entre los 20 y los 59 años de edad.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

El hombre alcanza la etapa plena de desarrollo humano, se enfrenta a la sociedad con un nivel de responsabilidad en la formación de las nuevas generaciones

Clasificación por edades

Adulto joven ----de 18 años a----35 años

Adulto maduro----de 35 años a----59 años

A esa edad el ADULTO JOVEN alcanza la madurez física y sus sistemas corporales funcionan a óptimo nivel adquieren una filosofía de la vida acorde con los cambios sexuales las transformaciones físicas y el momento social en el cual se desarrollan. La percepción sensorial e intelectual y el vigor muscular están al máximo

Adulto sano

Se considera a una persona saludable cuando está en equilibrio con su medio ambiente, cuando hay autonomía, dignidad y responsabilidad en su familia y en la comunidad.

Salud depende de dos grandes grupos de factores fundamentales:

Los factores constitucionales ó genéticos que marcan al ser humano desde su nacimiento.

El Medio ambiente que ejerce su influencia sobre los factores genéticos.

El primer grupo conformado por los factores constitucionales ó genéticos que marcan al ser humano desde su nacimiento

El segundo grupo está dado por el Medio ambiente que ejerce su influencia sobre los factores genéticos

Hay que orientar y exigir a las personas con respecto a la necesidad de responsabilizarse en las cuestiones de salud, es importante la reorientación del concepto de Salud.

Aproximadamente el 90% de los jóvenes opinan que su salud es excelente, muy buena o buena. La gente de este grupo de edad informa que tiene mucho menos resfriados e infecciones respiratorias que cuando niños; y que cuando tiene resfriados, generalmente se deshace de ellos fácilmente. Muchos adultos jóvenes nunca están seriamente enfermos o incapacitados. Menos de 1% están limitados en la habilidad de moverse y hacer cosas por dolencias crónicas o deterioro.

Además de las defunciones por accidentes, que afectan principalmente a la población joven, las enfermedades que en la actualidad preocupan por su irreversibilidad son el VIH/SIDA y la leucemia. De igual forma, llama la atención el creciente nivel de violencia interpersonal, la depresión y el aislamiento en el que se encuentran muchos adolescentes y jóvenes, que son particularmente susceptibles a los homicidios y al suicidio.

Cerca de la mitad de todas las dolencias agudas experimentadas en la vida adulta joven son respiratorias, y otro 20% son heridas. Las dolencias crónicas más frecuentes, especialmente en



*2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014*

Memorias

familias de bajos ingresos, son problemas de la espalda o de la columna, deterioro de la audición, artritis e hipertensión. Las razones más frecuentes para la hospitalización en estos años son alumbramientos, accidentes y enfermedades del sistema digestivo y genitourinario causado generalmente por el estilo de vida que llevan las personas

El presente estudio forma parte del proyecto “Riesgos y Daños a la Salud en estudiantes Universitarias del Área de la Salud del estado de Guerrero financiado por Promep que esta llevando a cabo el CA “Riesgos a la Salud Colectiva” de la UA Enfermería No. 1. El objetivo fue medir prevalencias de riesgos a la salud en las estudiantes de los grupos de edad de 20 a 25 años.

Materiales y metodos:

El estudio es transversal, descriptivo.

Lugar de estudio: Unidades académicas del área de la salud de la UAGro.

Población blanco. Estudiantes del grupo de edad de 20 a 25 años.

Población de estudio. Estudiantes universitarias del área de la salud de 20 a 25 años.

La muestra fue bietapica, por conglomerados.

La primera etapa fue selección de las Unidades Académicas y la segunda etapa la selección de los grupos. La unidad de muestreo el grupo y la unidad de análisis cada alumna.

De la muestra de 462 alumnas del área de la salud de la UAGro se seleccionaron 334 alumnas del grupo de edad de 20 a 25 años.

Criterios de inclusión. Alumnas legalmente inscritas que aceptaron participar mediante consentimiento informado.

Criterios de exclusión. Alumnas que no desearon participar y alumnos varones. Se utilizo encuesta autoaplicada, previamente validada.

El presente estudio fue autorizado por la comisión de Bioética e Investigación de la UAGro y se apega a los principios de Helsinki y la a la Ley General de Salud de México. Por lo tanto cumple con el principio básico de equidad, no daño, confidencialidad y beneficencia

Se construyo una base de datos en el programa EpiData versión 3.0 y el análisis estadístico se llevo a cabo en Stata 8.0. Se determinaron frecuencias, porcentajes y se construyeron gráficas.

Resultados:

De un total de 462 estudiantes de nivel superior del área de la salud de la UAGro encuestadas 334 representando el 72.29% de las se encuentra entre las edades de 20 a 25 años (ver grafica No.1)

Las características determinadas en el grupo de alumnas encuestadas se presentan en los siguientes cuadros:



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

CUADRO No.1 Características socio demográficas de Alumnas del Área de la Salud de 20-25 años de la UAGro.

VARIABLE		FRECUENCIA	PORCENTAJE
Edad	20	82	24.55
	21	104	31.14
	22	78	23.35
	23	35	10.48
	24	18	5.39
	25	17	5.09
Estado Civil	Soltera	371	80.30
	Casada	53	11.47
	Unión libre	33	7.14
	Divorciada	4	0.87
	Viuda	1	0.22
Pertenece grupo indígena	Si	78	16.88
	No	256	83.12
Pueblo original	mixteco	26	29.55
	Amuzgo	6	6.82
	Tlapaneco Me'phaa	37	42.05
	Náhuatl	19	21.59
Tamaño de la población de origen	De más de 10000 habitantes	191	43.12
	Entre 2500 a 10 000 habitantes	135	30.47
	De menos de 2500 habitantes	191	43.12



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

CUADRO No.2. Características Epidemiológicas de Alumnas del Área de la Salud de 20-25 años de la Gro.

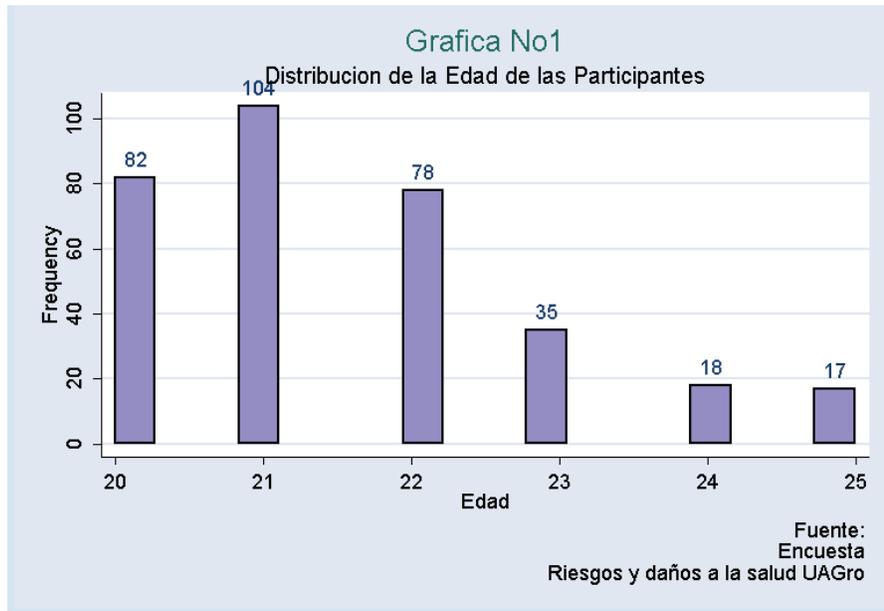
VARIABLE		FRECUENCIA	PORCENTAJE
Fumaste alguna vez	Si	136	40.72
	No	198	59.28
Antes fumaban, ahora no	Si	67	20.06
	No	267	79.94
Consumo de tabaco en el último año	Si	51	15.27
	No	283	84.73
Consumo de tabaco en el último mes	Si	33	9.88
	No	301	90.12
Papá ingieren alcohol	Nunca	92	27.54
	Antes tomaba, ahora ya no	97	29.04
	Una a doce veces al año	84	25.15
	Cada quince días	34	10.18
	Cada ocho días	18	5.39
	Casi a diario o diario	9	2.69
Mamá ingieren alcohol	Nunca	211	63.17
	Antes tomaba, ahora ya no	36	10.78
	Una a doce veces al año	81	24.25
	Cada quince días	4	1.20
	Cada ocho días	2	0.60
Han tomado bebidas alcohólicas	Si	281	84.13
	No	53	15.87
Probadoras de droga ilegal	Si	20	5.99
	No	314	94.01
Tipo de droga consumido	Ninguno	321	96.11
	Marihuana	13	3.89
Tienes pareja	Si	303	9.01



2° Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
 9° Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
 1er Verano de Investigación UAGro
 Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

	No	30	90.99
Uso de preservativo	Si	175	52.40
	No	159	47.60



Discusion

Existe un amplio rango de edades que presentan las alumnas de la salud de 20 a 25 años de edad, en este estudio se pudo encontrar que existen varios riesgos y daños a la salud que se han operado este grupo de edad relacionado con su estilo de vida así como del entorno que las rodea y los antecedentes que presentan personas cercanas a ellas principalmente familiares, de acuerdo a los resultados el principal problema que aqueja a este grupo de edad son la presencia de adicciones.



2º Encuentro Estatal de Jóvenes Investigadores-Conacyt
9º Coloquio Estatal de Jóvenes Talento en la Investigación
1er Verano de Investigación UAGro
Acapulco, Guerrero 24-26 de Septiembre 2014

Memorias

Conclusión

Es necesario elaborar un programa de intervención para ofertar medidas de prevención así como información a alumnas, debido a los riesgos a la salud a los que son susceptibles este grupo de edad lo cual se desarrollan debido a estilos de vida no saludable, al ambiente que las rodea al igual que el consumo de tabaco, alcohol, y /o drogas, la oferta de métodos anticonceptivos y por medio de estas medidas evitar la deserción estudiantil y la igualdad de género.

Agradecimientos

El presente estudio forma parte del proyecto “Riesgos y Daños a la Salud en estudiantes Universitarias del Área de la Salud del estado de Guerrero financiado por Promep que está llevando a cabo el CA “Riesgos a la Salud Colectiva” de la UA Enfermería No. 1. El objetivo fue medir prevalencias de riesgos a la salud en las estudiantes de los grupos de edad de 20 a 25 años.

Asesores: M.C. Mirna Eréndira Torres Castañón, docente-investigador de la maestría, UAGro, Dr. Juan Manuel Carreón Gómez

Referencias

- Principales causas de mortalidad en México, Secretaria General del Consejo Nacional de Población (CONAPO), 2010 disponible en http://www.portal.conapo.gob.mx/publicaciones/mortalidad/Mortalidadxcausas_80_07.pdf
- Atención de enfermería al pre-escolar, escolar, adolescentes, joven, adulto sano y al trabajador. Lic.Lidia Nuñez Redonet, disponible en <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/pdvedado/prescolar.pdf>
- Teorías del Desarrollo III, Guadalupe Jiménez Sanchez,2012 disponible en http://www.aliatuniversidades.com.mx/bibliotecasdigitales/pdf/Educacion/Teorias_del_desarrollo_III.pdf
- La Edad Adulta, Néstor Fernández Sánchez, disponible en http://www.ite.educacion.es/formacion/materiales/124/cd/guia/documentacion%20complementaria/15_persona_adulta.pdf