SERVOLAB
SCIENCE NEWS
REVISTA DE INVESTIGACIÓN
PATROCINADA POR:
SERVOLAB OVERSEAS INC

VOLUMEN 1 / N° 1
ENERO-JUNIO, 2022

UROLITIASIS:
Una lucha constante entre inhibidores y facilitadores de la precipitación urinaria

ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA:
Pronóstico de vida a través de enzimas y electrolitos

COLOSSOMA MACROPOMUM:
Nocividad y respuesta inmune al cadmio

SUPERFICIES DE ORO:
Sus modificaciones como posibles medios para el estudio de procesos de adsorción

MALARIA:
Un grano más en la lucha por su erradicación

SERVOLAB:
25 años al servicio de la analítica en Venezuela y latinoamérica

Hierro, Estrés Oxidativo y Covid-19: UNA INTERCONEXIÓN PELIGROSA

SERVICIOS DE ANÁLISIS ESPECIALES
DE LABORATORIO
Y ASESORÍAS EN DIVERSAS ÁREAS

SERVOLAB



**Contamos con el laboratorio más moderno
para caracterización de materiales en Venezuela.
Operando bajo estándares conocidos
(ASTM, ISO, EPA) y reglas GLP.**

NETZSCH Proven Excellence. · BRUKER · w+b · SCION INSTRUMENTS · Topcast · HERZOG · SKALAR · analytikjena

OFRECEMOS LOS SIGUIENTES SERVICIOS

- **Servicios analíticos.**
- **Formación.**
- **Demostraciones.**
- **Desarrollo de métodos.**
- **Investigación y desarrollo.**







SERVOLAB

PONEMOS A SU DISPOSICIÓN

Toda nuestra cartera de técnicas analíticas para estudios de materiales

Resonancia Magnética Nuclear de Dominio Temporal (TD-NMR)

Fluorescencia de Rayos X (XRF)

Micro Fluorescencia de Rayos X (μFRX)

Difracción de Rayos X (XRD)

Cromatografía de Gases (GC)

Espetrometría de emisión óptica (Arco y chispa) y analizadores de combustión (CS ONH)

Espectroscopia de Absorción Atómica (AAS)

Espectroscopia de Infrarrojo (FT-IR y FT-NIR)

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

MÁQUINA DE ENSAYO DE CEMENTO

Serie D,DB Super

w+b



PLATAFORMAS DE CEMENTO ACTUALES SON LA SEXTA GENERACIÓN

ESTOS SISTEMAS DE PRUEBA ESTÁN DISPONIBLES COMO MÁQUINAS DE ESPACIO DE TRABAJO DE COMPRESIÓN SIMPLE 200, 250 O 300 KN DE CAPACIDAD CON ESPACIO ADICIONAL PARA ENSAYOS DE FLEXIÓN CO 10,15,20 Y 25 KN



DISEÑADOS PARA IMPULSAR TU PRODUCTIVIDAD

EN LAS PRUEBAS DE CEMENTO DE COMPRESIÓN Y FLEXIÓN EN MUESTRA DE CEMENTO Y MORTERO





OFRECEMOS MÁQUINAS DE PRUEBA QUE CUMPLEN CON LOS ESTANDARES PARA PRUEBAS DE CEMENTO Y OTROS AGLUTINANTES.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

SERVOLAB SCIENCE NEWS

Revista interdisciplinaria de la empresa Servolab

Revista interdisciplinaria, arbitrada a doble ciego de la empresa Servolab. Este órgano de divulgación científica publica trabajos científicos originales, novedosos, inéditos, concisos, revisiones, comunicaciones, correctos en su estilo y el uso de abreviaturas, símbolos y términos, que contribuyan al avance y difusión de la investigación científica, principalmente en las áreas de ciencias básicas, ciencias de los materiales, ciencias de la salud, farmacia y alimentos. SERVOLAB SCIENCE NEWS publica dos volúmenes anuales sin especificación de números, los artículos son recibidos y arbitrados se van incorporando en su área respectiva en orden de aprobación.

COMITÉ EDITORIAL
EMPRESA SERVOLAB
José Manuel Mago Marcano
Editor jefe
Director jefe, empresa Servolab

William José Velásquez Sanzonetti
Editor adjunto
Escuela de ciencias, núcleo de Sucre, Universidad de Oriente

EDITORES POR ÁREA

Ciencias de los materiales
Blanca Rojas de Gascue
Instituto de Investigaciones Biomédicas
y Ciencias Aplicadas

Química
Euclides José Velazco Rivero
Escuela de ciencias, núcleo de Sucre, Universidad de Oriente

Wendy Rondón
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas

Biología
Brightdoom Márquez Rojas
Instituto Oceanográfico de Venezuela,
Universidad de Oriente

José Amador Sánchez Carreño
Escuela de humanidades y educación, núcleo de Sucre,
Universidad de Oriente

Física
José Eduardo Rengel Hernández
Escuela de ingeniería, núcleo de Anzoátegui,
Universidad de Oriente

Salud
Yurilis Josefina Fuentes Silva
Escuela de medicina, núcleo de Bolívar,
Universidad de Oriente

Farmacia
Rafael Danilo García Pérez
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Microbiología y Biología Celular, Unidad de Microscopía Electrónica y Confoncal.

Alimentos
Víctor Hugo López López
Consultores Sigma APS, C.A.

Editor Web
José Amador Sánchez Carreño
Escuela de humanidades y educación, núcleo de Sucre,
Universidad de Oriente

COMITÉ CIENTÍFICO ASESOR

Blanca Rojas de Gascue
Universidad de Oriente, Venezuela

Rolando José Tremont
University of Puerto Rico at Humacao, Puerto Rico

Edgar Alexander Márquez Brazón
Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

Militza del Carmen Guzmán Lista
Universidad de Oriente,Venezuela

América Belen Vargas Milano
Universidad de Oriente, Venezuela

María del Valle Valera Maneiro
Universidad de Oriente, Venezuela

José Gregorio Betancourt Villarroel
Universidad Tecnológica del Perú, Perú

Yanet del Valle Antón Marín
Universidad de Oriente, Venezuela

Raquel del Valle Salazar Lugo
Universidad de Oriente, Venezuela

Mairin Josefina Lemus Barrios
Universidad de Oriente, Venezuela

Ney Luiggi Ágreda
Universidad de Oriente, Venezuela

Depósito legal impreso
B02022000008
Depósito legal digital
B02022000007

Dirección:
(USA)
19013 NW 30th Street UNIT 100, Doral, FL, 33172
Phone: + 1 786 314 7142
(VENEZUELA)
Zona industrial Los Pinos, Manzana 36 Galpón 30B
Puerto Ordaz, Bolívar
Teléfono: +58 (0) 286 7154303
Servolab Overseas Inc.
Rif: J-411600750

E-mail
ssnews@servolab-overseas.com
Twitter: @ServolabSN

SERVOLAB SCIENCE NEWS
Coordinación y revisión
William José Velásquez Sanzonetti
Coordinación gráfica y diseño
Joaquín Gómez
Redacción
Rauso De La Rosa Castro
Impresión
Editoriales Radoca, C.A.

Carta Editorial

El inicio de una revista científica siempre es un desafío para todo el equipo que la conforma, pero hacerlo en época de esta pandemia por covid19 es aún mayor. SERVOLAB SCIENCE NEWS (SSN) nace con el objetivo de ser un canal informativo para el intenso movimiento científico latinoamericano, pero en especial para apoyar todas las dificultades que se viven en algunos de nuestros países para hacer ciencia.

Desde nuestras páginas pretendemos propulsar artículos de ciencia en las más diversas ramas del saber humano, haciendo énfasis en todas aquellas que puedan usar instrumentos analíticos para abordar desafíos y situaciones complejas de la vida diaria, presentando resultados científicos que son la base promisoria de posibles soluciones actuales y futuras.

Hemos conformado un equipo multidisciplinario en el comité editorial y de arbitraje para esforzarnos por presentarles, en cada número, artículos de ciencia inéditos, singulares y de alto bagaje investigativo, en tres idiomas principales, español, portugués e inglés.

Resulta una bonita casualidad que el primer número de nuestra revista coincida con el 25 aniversario de la empresa que dio inicio a este trabajo, SERVOLAB C.A., por ese motivo hallarán una reseña de estos 25 años de trabajo por la promoción de la ciencia desde el ángulo de quienes proveen las soluciones analíticas

Dos veces por año estaremos en versión digital, algunas veces impresa, para llevar al público en general avances en áreas como medicina, ciencias de la vida, física, geología, petróleo, química analítica y muchas más, tengan la seguridad que este equipo editorial siempre buscará los mejores artículos de ciencia que estén disponibles en cada oportunidad sin preferencias políticas, religiosas, de raza ni de ningún otro tipo.

En medio de tantas noticias desalentadoras en los últimos años, esperamos, de corazón, que el nacimiento y consolidación de SERVOLAB SCIENCE NEWS, como una importante revista latinoamericana de diseminación científica, sea posible y sobre todo que cuente con la bendición divina y aceptación de ustedes.

Cordialmente,

Ing. José Manuel Mago

Editor jefe

Editorial Letter

The beginning of a scientific journal is always a challenge for the entire staff that makes it up, but making it happen during this hard time due to the COVID-19 pandemic is even harder. SERVOLAB SCIENCE NEWS (SSN) was born with the aim of being an informative channel for the intense Latin American scientific movement, but specially to counteract all the difficulties that some of our countries are facing to make science.

From our pages we intend to promote science articles in the most diverse branches of human knowledge, emphasizing all those that can use analytical instruments to address challenges and complex situations of daily life, presenting scientific results for upcoming solutions for the future.

We have put together a multidisciplinary staff in the Editorial and Arbitration Committee to strive and show you in each issue, unpublished and unique science articles with a high research background, in three main languages: Spanish, Portuguese and English.

It is a nice coincidence that the first issue of our journal accords the 25th anniversary of the company that made this possible SERVOLAB, C.A. , for this reason you will find a review of these 25 years of hard work to promote the science from the perspective of the ones in charge to provide analytical solutions.

The journal will be in a digital version twice a year but also occasionally printed to bring to the general public the advances in areas such as medicine, life sciences, physics, geology, petroleum, analytical chemistry and many more, be assured of this editorial staff will always search for the best science articles available at every opportunity without political, religious, racial or any other preferences.

In the middle of so much discouraging news in recent years, we sincerely expect the birth and consolidation of SERVOLAB SCIENCE NEWS turns it into an important Latin American journal for scientific dissemination and specially it is blessed and accepted by all of you.

Sincerely,

Eng. José Manuel Mago

Chief Editor

Carta Editorial

O início de uma revista científica é sempre um desafio para toda a equipe que a compõe, mas fazer acontecer nesse momento difícil devido à pandemia do COVID-19 é ainda mais difícil. O SERVOLAB SCIENCE NEWS (SSN) nasceu com o objetivo de ser um canal informativo para o intenso movimento científico latino-americano, mas principalmente para contrariar todas as dificuldades que alguns de nossos países enfrentam para fazer ciência.

A partir das nossas páginas pretendemos divulgar artigos científicos nos mais diversos ramos do conhecimento humano, dando ênfase a todos aqueles que podem utilizar instrumentos analíticos para enfrentar desafios e situações complexas do cotidiano, apresentando resultados científicos para soluções futuras.

Formou-se um equipamento multidisciplinar no Comité Editorial e de Arbitragem para esforzarnos por apresentar em cada número, artigos de ciência inéditos, singulares e de alto nível investigativo, em três idiomas principais, espanhol português e inglês.

É uma bela coincidência que o primeiro número de nossa revista celebre o 25º aniversário da empresa que tornou isso possível SERVOLAB, C.A. , por isso você encontrará uma revisão desses 25 anos de trabalho árduo para promover a ciência na perspectiva dos responsáveis por fornecer soluções analíticas.

A revista estará em versão digital duas vezes por ano, mas também impressa ocasionalmente para levar ao grande público os avanços em áreas como medicina, ciências da vida, física, geologia, petróleo, química analítica e muito mais, tenha certeza deste corpo editorial sempre procurará os melhores artigos científicos disponíveis em todas as oportunidades, sem preferências políticas, religiosas, raciais ou quaisquer outras.

Em meio a tantas notícias desanimadoras nos últimos anos, esperamos sinceramente que o nascimento e consolidação da SERVOLAB SCIENCE NEWS a transforme em uma importante revista latino-americana de divulgação científica e, principalmente, seja abençoada e aceita por todos vocês.

Sinceramente,

Eng. José Manuel Mago

Editor - chefe

CONTENIDO
Servolab Science News Vol. 1 N 1 (2022)

EDITORIAL..... 4

CIENCIAS DE LA SALUD

HIERRO, ESTRÉS OXIDATIVO Y COVID-19: UNA INTERCONEXIÓN PELIGROSA.

Raquel Salazar-Lugo..... 8

VARIACIONES DE ELEMENTOS Y COMPUESTOS INHIBIDORES Y FACILITADORES DE LA PRECIPITACIÓN CRISTALINA EN RELACIÓN AL TIPO DE CÁLCULO EN PACIENTES UROLITIÁSICOS.

William José Velásquez Sanzonetti, América Belén Vargas Milano, Alberto José García García, Dixson José Velásquez Sanzonetti, Luis Adelino Márquez Segura, Raul Sosa Negrín..... 18

VARIACIONES ELECTROLÍTICAS Y ENZIMÁTICAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA HEMODIALIZADOS DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE.

América Belén Vargas Milano, William José Velásquez Sanzonetti, Niurvis María Salmerón Rodríguez, Catherine Del Valle Caballero Guerra, Ana Teresa Acosta Rojas, Nathaly Gregoria Loyo ZApata, Felianny Urbaneja Campos, Merly Yelitze Guzmán de la Rosa..... 32

CIENCIAS BÁSICAS (BIOLOGÍA)

EVALUACIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA CELULAR EN POLIMORFONUCLEARES PROVENIENTES DEL PRONEFROS DE ALEVINES DE *COLOSSOMA MACROPOMUM* EXPUESTOSA UNA DOSIS SUBLETAL DE CADMIO.

Yanet del Valle Antón Marín..... 45

CIENCIAS BÁSICAS (QUÍMICA)

REACTION OF 3-MERCAPTO-1-PROPANOL WITH ACRYLAMIDE ON GOLD SURFACES.

Natalia N. Olmeda-Viera, Jennifer Camacho-Lugo, Coral Alicea-Mauneto, Erika Serrano-Díaz, Rosa D. Brito-Gomez, Rolando J. Tremont..... 60

ON THE MOLECULAR INTERACTION BETWEEN ITACONIC ACID AND ANTIMALARIAL COMPOUNDS BY EMPLOYING DFT CALCULATION.

Lorraine Sanchez, Eliceo Cortes, Norma Rangel, Virginia Flores, Maryury Flores, Edgar Márquez..... 71

SERVOLAB: 25 AÑOS AL SERVICIO DE LA ANALÍTICA EN VENEZUELA Y EN LATINOAMÉRICA.

Rauso José De La Rosa, José Manuel Mago Marcano, Mary C. Arredondo de Mago..... 78

NORMATIVA PARA LOS AUTORES..... 86

HIERRO, ESTRÉS OXIDATIVO Y COVID-19: UNA INTERCONEXIÓN PELIGROSA

(IRON, OXIDATIVE STRESS AND COVID-19: A DANGEROUS INTERCONNECTION)

RAQUEL SALAZAR-LUGO[1]

[1]Universidad de Oriente Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis

E-mail: rsalazarlugo50@gmail.com

RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud llamó Covid-19 a la enfermedad producida por un virus de la familia de los coronavirus que se ha convertido en la pandemia más grande que ha vivido la humanidad en el siglo 21, dado a su propagación en todos los continentes y a sus implicaciones de salud, económicas y sociales en todos los países. Los datos clínicos y de laboratorio señalan el fuerte compromiso del hierro y del estado oxidativo del organismo en la progresión de la enfermedad. Hierro y oxígeno están interconectados en los seres vivos en una delicada relación en la cual se generan especies reactivas que la célula aprovecha para procesos de señalización celular y para la expresión de genes que mantienen la vida. Un balance mantenido por una robusta maquinaria bioquímica antioxidante. Los virus también necesitan de hierro para su eficiente replicación ya que dependen de la célula para su continua existencia porque la replicación viral está asociada con la potenciación del metabolismo celular para la construcción del genoma viral y de sus proteínas. Las infecciones virales mantienen su ciclo de replicación promoviendo un entorno prooxidante en la célula huésped y el SARS-Cov2 parece ser extremadamente eficiente en propiciar este entorno oxidativo como lo evidencian los hallazgos de laboratorio en pacientes infectados. En esta revisión se discuten los hallazgos que implican al estrés oxidativo y su íntima vinculación con el metabolismo del hierro como dos factores claves en la severidad de la Covid-19.

Palabras clave: Covid-19, hierro, estrés oxidativo, glutatión, tioles totales, capacidad antioxidante total.

ABSTRACT

The World Health Organization (WHO) named Covid-19 to disease produced by a virus from the coronavirus family that has become the largest pandemic that humanity has experienced in the 21st century, due to its spread on all continents and its health, economic and social implications in all countries. Clinical and laboratory data indicate the strong commitment of iron and the oxidative state of organism in the progression of Covid-19. Iron and oxygen are interconnected in the life in a fine relationship that generate reactive species which are used for cellular signaling processes and for the expression of genes. A balance maintained by a robust antioxidant biochemical machinery of the cell. Viruses also need iron for their efficient replication since they depend on the cell for their continued existence because viral replication

Recibido: 16/09/2021
Aceptado: 06/12/2021

is associated with the enhancement of cellular metabolism for the construction of the proteins and viral genome. Viral infections maintain their replication cycle by promoting a pro-oxidant environment in the host cell and, SARS-Cov2 appears to be extremely efficient in promoting this oxidative environment as evidenced by laboratory findings in Covid-19 patients. In this review are discussed the findings that relationship the oxidative stress and iron metabolism as two key factors in the severity of Covid-19.

Key words: Covid-19, oxidative stress, iron, gluthatione, thiols, total antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

A finales del año 2019, se reportó en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China, la aparición de múltiples casos de neumonía severa que se identificaron como un severo síndrome respiratorio agudo, el cual podía conducir a la muerte. Poco después se encontró como agente causal un nuevo b-coronavirus que se llamó SARS-CoV-2, por las siglas en inglés de «Severe Acute Respiratory Syndrome» coronavirus 2 (Chan 2020). La organización mundial de la salud llamó Covid-19 a la enfermedad producida por este coronavirus que se ha convertido en la pandemia más grande que ha vivido la humanidad dado su propagación en todos los continentes y a sus implicaciones de salud, económicas y sociales en todos los países (Who 2020).

Una revisión de la literatura indica que no es éste el primer coronavirus que produce infecciones en humanos. En el año 1960 fue identificado un coronavirus que se le denominó HCoV-229E, este virus produce, en los humanos, una infección de las vías respiratorias superiores, siendo responsable de una de las más conocidas causas del resfriado común (Yeager *et al*. 1992). A finales del año 2002 y durante el 2003 se produjo una mini-pandemia por coronavirus en los países del sudeste asiático y se extendió por 30 países, incluyendo casos esporádicos en países suramericanos (Brasil y Colombia), el agente causal fue un coronavirus que produjo un síndrome respiratorio severo y agudo; a este agente viral se le identificó como SARS-CoV. Se reportaron 8422 casos. (Anderson *et al* 2004; Cherry 2004; Tong 2006). En el año 2012, nuevamente se reporta otro tipo de coronavirus, aislado de un paciente de 60 años quién muere por una infección respiratoria aguda. A este coronavirus se le denomina MERS-CoV por las siglas en inglés de «Síndrome Respiratorio del Medio Oriente»; la virosis se propagó en países del Medio Oriente. Para este coronavirus, sólo se reportaron 2500 casos, sin embargo, la rata de mortalidad de la enfermedad se situó en 43,00% (Fehr 2015).

Los datos clínicos y de laboratorio señalan el fuerte compromiso del hierro y del estado oxidativo del organismo en la progresión de la Covid-19 (Zhou *et al*. 2020). La prevalencia de personas ancianas, obesas, diabéticas o hipertensas con casos severos de Covid-19, en diferentes países, demuestra que existe un factor común en estos grupos de riesgo (Zhou *et al*. 2021). Algunos investigadores consideran que el desbalance oxidativo generado por el estado inflamatorio crónico que acompañan a las patologías arriba mencionadas podría ser el factor que facilite la progresión de la Covid-19 hacia estados severos (Delgado-Roche & Mesta 2020). En esta revisión se discuten los hallazgos que implican al estrés oxidativo y su íntima vinculación con el metabolismo del hierro como dos factores claves en la severidad del Covid-19.

El hierro y su rol central en la vida

La posición central del hierro para la vida es mantenida en casi todas las formas de vida. La

dependencia de hierro para los procesos vitales puede explicarse por su química de coordinación, su flexibilidad de unir ligandos y por el hecho de que este metal durante las condiciones reducidas de la atmósfera primitiva rica en sulfuros se encontraba biodisponible para las diferentes formas de vida que se estaban creando. En la atmósfera actual rica en oxígeno, el hierro es altamente insoluble y esto disminuye su biodisponibilidad a pesar de su abundancia en la tierra, de tal forma que existe una ferrea competencia entre hospederos y patógenos por este bioelemento (Schaible & Kaufmann 2004).

Los virus no escapan a la necesidad de hierro ya que ellos dependen de la maquinaria celular para continuar su existencia y esta maquinaria está dirigida por proteínas que requieren de hierro para cumplir su función. El éxito de una eficiente propagación del virus dependerá de cómo éste pueda aprovecharse de la biodisponibidad de hierro del hospedero. En humanos este elemento está finamente regulado, su entrada por la dieta a través de los enterocitos se realiza por transportadores específicos sobre estas células, una vez en el enterocito, el hierro puede ser almacenado en la ferritina (proteína almacenadora de hierro) o pasa al torrente sanguíneo favorecido su transporte por la ferroportina (proteínas de membrana transportadora de hierro), una vez reducido por la hefastina, una oxidoreductasa de membrana, se une a la transferrina (proteína transportadora de hierro sérico), que lo conduce a los diferentes órganos donde se requiere. El hierro sistémico va a estar regulado por la hormona hepcidina, la cual es producida en el hígado mayoritariamente y en menor cuantía, por el riñón y las células mieloides. Un incremento de hierro en la sangre va acompañado por la sobre expresión de la hepcidina, la cual ejerce su acción en los enterocitos y macrófagos internalizando la ferroportina y de ese modo impidiendo que el hierro salga de esas células. Esto conduce a la disminución de la captura de hierro por el enterocito y al almacenamiento de este elemento en los macrófagos. Una disminución de hierro en la sangre, disminuye la expresión de hepcidina y el hierro es liberado de los enterocitos y macrófagos a la sangre (Salazar-Lugo 2015).

Además de actuar como una hormona reguladora de las concentraciones de hierro sistémico, la hepcidina es también una proteína de fase aguda y se sintetiza en condiciones de inflamación a través de rutas de señalización celular que involucran a la interleuquina 6 (IL-6), la cual es una citoquina inflamatoria (Nemeth 2004; Wang & Babitt 2016). De tal forma que infecciones virales que incrementen la producción de IL-6 y que afecten la función hepática pueden producir cambios en la homeostasis del hierro.

El hierro y el estrés oxidativo

El hierro y el oxígeno son dos elementos esenciales para los procesos metabólicos que mantienen la vida aeróbica. Un ejemplo de esta interconexión está representado en el proceso de respiración celular donde los componentes proteicos de la cadena transportadora de electrones son proteínas con bloques hierro-azufre o hierro en anillos hemo cuya función central es transportar los electrones y protones provenientes de los procesos de oxidación de las moléculas combustibles hacia el último aceptor que es el oxígeno molecular. Otro ejemplo puede ser observado en la hemoglobina que necesita del grupo hemo con un átomo de hierro ferroso para el transporte de oxígeno hasta la mitocondria donde ocurre la respiración celular (Lill *et al.* 2014; Gao *et al.* 2021). En estos dos ejemplos queda bien representado la interconexión del hierro y el oxígeno.

La reactividad del hierro en un ambiente rico en oxígeno, puede conducirlo a su fácil oxidación a través de reacciones de Fenton produciendo especies reactivas del oxígeno (ERO) tales como anión superóxido, peróxido de hidrógeno, peroxinitritos, ion hidroxilo; la producción excesiva de ERO puede oxidar los lípidos de las

membranas celulares, las proteínas y el ADN, generando daño en la célula. Por eso existe todo un estricto manejo del hierro por el organismo y por la célula. Debido a que los procesos vitales tales como la respiración celular producen ERO, la célula mantiene estas moléculas a concentraciones muy bajas a través de la presencia de una eficiente maquinaria antioxidante formada por enzimas (superóxido dismutasa, peroxidasa, glutatión peroxidasa y catalasa) y por moléculas no enzimáticas tales como el glutatión (GSH por sus siglas en inglés), vitamina D, C y elementos como el selenio, y el Zn. Las ERO, a concentraciones controladas, son mediadoras importantes en rutas de señalización celular que controlan la transcripción de genes de proteínas antioxidantes y antinflamatorias (Forrester *et al.* 2018).

Bajo condiciones patológicas la acumulación de hierro en la célula puede exceder la capacidad de almacenamiento de la misma produciendo hierro activo redox lo cual promueve el estrés oxidativo. Las especies reactivas que se generan por exceso de hierro pueden producir un ambiente inflamatorio que rompe la función del órgano implicado.

Interconexión entre SARS CoV-2, hierro y estrés oxidativo

La interconexión entre el hierro y oxígeno conduce a la generación de ERO que la célula aprovecha para procesos de señalización celular y la expresión de genes que mantienen la vida. Un balance mantenido por una robusta maquinaria bioquímica antioxidante. La dependencia de los virus de la célula los vuelve dependientes del hierro para su eficiente replicación ya que este proceso está asociado con la potenciación del metabolismo celular para la construcción del genoma viral y de sus proteínas (Drakesmith & Prentice 2008). De tal forma que el incremento en la biodisponibilidad de hierro favorece la formación de un ambiente oxidante y ambos son propicios para la expansión viral.

En el caso particular del coronavirus SARS- Cov 2, por simulación dinámica molecular, se determinó que la afinidad de unión entre el dominio de enlace de la proteína Spike (S), proteína que el virus emplea para ingresar a la célula, y el receptor ACE2 se ve disminuida cuando todos los enlaces disulfuros tanto del dominio de unión de la proteínas Spike como del receptor están reducidos a grupos tioles (Hati & Bhattacharyya 2020). Esto sugiere que una conformación oxidada de estas proteínas favorece la interacción del virus con el receptor. Manèek-Keber *et al.* (2021), en un estudio experimental utilizando modelos murinos, demostraron que la integridad de puentes disulfuros dentro del dominio de unión al receptor de la proteína S juega un rol en el proceso de fusión viral. Estos autores demuestran que algunos agentes reductantes y compuestos reactivos tioles tales como N-acetil cisteína amida, ácido L-ascórbico, dalcetrapibo (JTT-705), y auranofina pueden inhibir la entrada viral, probablemente al cambiar la conformación oxidada de la proteína S a una conformación reducida, disminuyendo así su interacción con el receptor ACE2 e impidiendo la fusión de la membrana.

Estos hallazgos favorecen la hipótesis de que un ambiente oxidado y proinflamatorio facilita la virulencia y severidad del SARS- Cov 2 y quizás podría explicar lo ya conocido en cuanto a que la severidad de la infección sea más comprometedora en personas adultas mayores en las cuales se ha demostrado que alcanzan una disminución de sus defensas antioxidantes, con la edad (Davalli *et al.* 2016), así como en personas que tengan una patología de base vinculada con disminución de las defensas antioxidantes y procesos inflamatorios crónicos, tales como la diabetes mellitus, la hipertensión, el síndrome metabólico, hígado graso, e inclusive malnutrición por exceso o por déficit (Nicolau *et al.* 2021).

Los hallazgos de laboratorio en pacientes infectados con SARS-CoV-2, cada vez aportan evi-

dencia en la implicación del estrés oxidativo y el metabolismo del hierro en la severidad de la enfermedad (Whenzong & Hualang 2021). Karkhanei *et al.* (2021) reportaron que pacientes con Covid-19 hospitalizados en una unidad de cuidados intensivos (UCI) mostraban niveles elevados del estatus oxidativo total y reducción de los índices antioxidantes. En otro estudio, en pacientes diagnosticados con Covid-19 y en UCI se encontraron valores de vitamina C, tioles proteicos, glutatión reducido, g-tocoferol, b-caroteno y capacidad antioxidante total muy disminuidos cuando se les compara con los valores de referencia (Pincemail *et al.* 2021). Bajas concentraciones de Selenio también fueron reportadas en pacientes con la Covid-19 en comparación con individuos sanos (Majeed *et al.* 2021).

Valores plasmáticos disminuidos de las vitaminas A, C y E, de la actividad de las enzimas glutatión peroxidasa, catalasa y superoxido dismutasa; del GSH y malonaldehido (MDA) y de las concentraciones de Selenio, Zinc, Magnesio y Cobre se observaron en pacientes con Covid-19, (Muhamad *et al.* 2021). La ferritina, el MDA y la actividad de las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa así como el estatus oxidativo total se observaron aumentados, y la albúmina disminuida en pacientes con Covid-19 moderado y severo (Mehri *et al.* 2021). Así mismo, parámetros relacionados directamente con el metabolismo del hierro tales como hierro sérico, ferritina, transferrina y capacidad total de unir hierro se asociaron con la severidad del Covid-19 e igualmente con el riesgo del síndrome pulmonar severo, la coagulopatía y el daño agudo cardíaco, hepático y renal (Yanling *et al.* 2021). Incrementos de peróxidos plasmáticos se ha reportado en pacientes con la Covid-19 (Zendelovska *et al.* 2021).

Ducastel *et al.* (2021) midieron biomarcadores de estres oxidativo (tioles, productos oxidación avanzada de proteínas y albúmina isquémica modificada: IMA), biomarcadores de inflamacion (IL6 y presepsina: PSEP) y biomarcadores de activación celular (calprotectina) en plasma de pacientes hospitalizados, observándose la disminución en la concentración de tioles mientras que los compuestos IMA, IL-6, calprotectina y PSEP aumentaron con la severidad de la Covid-19 y estos parámetros se asociaron con el aumento de la necesidad de O_2. Metabolitos del óxido nítrico (nitrito y nitratos), metahemoglobina y el nivel del balance prooxidante y antioxidante se encontraron incrementados en sujetos con Covid-19 severa cuando se compara con sujetos saludables (Alamdari *et al.* 2021).

Boroujeni *et al.* (2021) sugieren que el estrés oxidativo podría estar implicado en la neuroinflamación glial que conduce a muerte neuronal en la corteza cerebral de pacientes con la Covid-19, debido a la disminución de los niveles de GSH que se observaron en astrocitos y en la microglia activada de pacientes con Covid-19. Sumado a esto, Sharif-Askari *et al.* (2021) reportan que el SARS-COV-2 induce la expresión de genes de EO ya sea vía sistema inmune o vía células estructurales del pulmón.

Mete *et al.* (2021) encontró que la homeostasis de tiol/disulfuros pueden contribuir a definir la patogénesis de la Covid-19. Otros estudios señalan a los tioles totales y tioles solubles como predictores independientes de la severidad de la Covid-19 tanto en adultos como en niños (Aykac *et al.* 2021; Kalem *et al.* 2021). Aunque, Gadotti *et al.* (2021) en su estudio no encontró correlación entre los parámetros de estrés oxidativo, que evaluó, con el grado de la severidad de la Covid-19.

Parámetros directamente relacionados con el metabolismo sistémico del hierro tales como ferritina, transferrina capacidad de unión del hierro e hierro sérico se encontraron relacionados con el riesgo a sufrir del síndrome respiratorio agudo, coagulopatía y daño agudo en el hígado, riñón y pulmón lo cual sugiere la asociación entre estos parámetros con la severidad y riesgo de

salida adversa de la Covid-19 (YANLING *ET AL.* 2021).

Perspectiva

Está demostrado la contribución del proceso inflamatorio agudo en la patogénesis de la Covid-19 por lo que la modulación de la respuesta inflamatoria y con ella el estrés oxidativo generado por la misma, usando inmunosupresión, es un concepto reciente que se viene aplicando en otras enfermedades y que se está experimentado en los pacientes con la Covid-19 con resultados positivos. De allí que una terapia antioxidante debe acompañar a los tratamientos para combatir la enfermedad generada por el SARS-Cov 2. En pacientes con Covid-19 que presentan elevados marcadores inflamatorios y oxidativos se le suministró exitosamente Vit C, E, N-acetil cisteína y melatonina para disminuir la agresividad de la enfermedad con resultados exitosos (PALACIOS *ET AL.* 2021). En otro estudio se demostró que una combinación de 50,00 µM de ácido alfa lipoico + 5,00 µM de palimitoiletanolamida puede reducir los niveles de ERO y óxido nítrico modulando, de esta forma, las citoquinas involucradas en la tormenta de citoqouinas que produce la infección viral; actuando estos compuestos como potentes antioxidantes (UBERTI *ET AL.* 2021).

Suplementación con vitamin D y L-acetilcisteína disminuyen el riesgo de EO y de la inflamación asociada con la diabetes mellitus tipo 2 en pacientes con la Covid-19 y con esta comorbilidad, lo cual podría ser usado también para otras comorbilidades asociadas como la obesidad y la hipertensión en pacientes con Covid-19. El compuesto natural gamma orizanol (gOz), extraido del salvado de arroz y con conocida propiedad antioxidante, se propone como coadyuvante para prevenir la tormenta de citoquinas en pacientes con la Covid-19 y con la condición de obesidad (FRANCISQUETI-FERRON *ET AL.* 2021). El empleo del zinc, un micronutriente antioxidante y antiinflamatorio con un rol central en el sistema immune, también se viene empleando en el tratamiento clínico contra la Covid-19 (PAL *ET AL.* 2021).

LUPÓN *ET AL.* (2021) proponen que en casos severos de hipoxemia y leucoencefalopatía post hipoxia presentada en algunos pacientes con la Covid-19 podría utilizarse HEMO2life®que es una hemoglobina extracelular extraída del gusano *Arenicola marina* con una capacidad para transportar O_2 40 veces más elevada que la hemoglobina A de vertebrados y con propiedades antioxidantes debido a que posee actividad parecida a la de la enzima superoxido dismutasa. Aunque aún está en fase experimental, en modelos animales, ha demostrado que mejora la oxigenación cerebral.

En general se han identificado diversos compuestos y sustancias bioactivas provenientes de fuentes diversas tales como la cúrcuma, propolis, ajo, soya, té verde con propiedades inmunomoduladoras, antioxidantes y antivirales (CÁRDENAS-RODRÍGUEZ *ET AL.* 2021; KEFLIE & BIESALSKI. 2021). Tales sustancias son alternativas que podrían incluirse como adyuvantes en el combate de la Covid-19 y ayudar a mejorar el estado oxidativo general manteniendo un estilo de vida adecuado y una alimentación rica en frutas y vegetales que contribuirán a reforzar los sistemas antioxidante e inmunológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMDARI D, MOGHADDAM A, AMINI S, KERAMATI M, ZARMEHRI A, ALAMDARI A, DAMSAZ M,BANPOUR H, YARAHMADI A. & KOLIAKOS G. 2020. Application of methylene blue -vitamin C –N-acetyl cysteine for treatment of critically ill COVID-19 patients, report of a phase-I clinical trial. *Eur. J. Pharmacol.* 885: 173494.DOI:10.1016/j.ejphar. 2020.173494.

ANDERSON R.M., FRASER C., GHANI A.C,

Donnelly C.A., Riley S., Ferguson N.M., Leung G.M., Lam T.H. & Hedley A.J. 2004. Epidemiology, transmission dynamics and control of SARS: The 2002–2003 epidemic. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 359: 1091–1105. DOI: 10.1098/rstb.2004.1490.

Aykac K., Ozsurekci Y., Cura B., Gurlevik S., Oygar P., Bolu N., Tasar M., Erdinc F., Ertem G., Neselioglu S., Erel O., Cengiz A. & Ceyhan M. 2021. Oxidant and antioxidant balance in patients with COVID-19. *Pediatr. Pulmonol*. 56(9): 2803-2810.

Boroujeni M., Simani L., Bluyssen H., Samadikhah H., Benisi S., Hassani S., Dilmaghani N., Fathi M., Vakili K., Mahmoudiasl G., Abbaszadeh H., Moghaddam M., Abdollahifar M. & Aliaghaei A. 2021. Inflammatory response leads to neuronal death in human post-mortem cerebral cortex in patients with COVID-19. *ACS Chem. Neurosci*. 12(12): 2143-2150.DOI:10.1021/acschemneuro.1c00111.

Chan J. F. 2020. Familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet*. 395(10223): 514–523.).

Cherry J.D. 2004. The chronology of the 2002–2003 SARS mini pandemic. *Paediatr. Respir. Rev.* 5: 262–269.

Davalli P., Mitic T., Caporali A., Lauriola A. & D'ARCA D. 2016. ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 3565127. DOI: 10.1155/2016/3565127.

Ducastel M., Chenevier-Gobeaux C., Ballaa Y., Meritet J., BRACK M., Chapuis N., Pene F., Carlier N., Szwebel T., Roche N., Terrier B. & BORDERIE D. 2021. Oxidative stress and inflammatory biomarkers for the prediction of severity and ICU admission in unselected patients hospitalized with COVID-19. *Int. J. Mol. Sci*. 22(14): 7462.

Delgado-Roche L. & MESTA F. 2020. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. *Arch. Med. Res*. 51(5): 384-387. DOI: 10.1016/j.arcmed.2020.04.019.

Drakesmith H. & PRENTICE A. 2008. Viral infection and iron metabolism. *Nat. Rev. Microbiol*. 6(7): 541-552. DOI: 10.1038/nrmicro1930.

Fehr A.R. & Perlman S. 2015. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 1282.

Forrester SJ., Kikuchi DS., Hernandes MS., Xu Q. & Griendling K. 2018. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ. Res*. 122(6): 877-902.DOI:10.1161/CIRCRESAHA.117.311401.

Francisqueti-Ferron F.V., GARCIA J.,TOGNERI A., NAKANDAKARE-Maia E., SCHMITT C., PAIXÃO J., DOS Santos K., COLOMBOÂ., SILVAY., MATTEI L., DE Paula B., SARZI F., VÁGULA de Almeida C., MORETO F., RÓVERO M., FERREIRA A., MINATEL I. & CORRÊA C. 2021. Gamma-oryzanol as a potential modulator of oxidative stress and inflammation via PPAR-y in adipose tissue: a hypothetical therapeutic for cytokine storm in COVID-19? *Mol. Cell Endocrinol*. 520: 111095.

GADOTTI A., LIPINSKI A., VASCONCELLOS F., MARQUEZE L., CUNHA E., CAMPOS A., OLIVEIRA C., AMARAL A., BAENA C., TELLES J., TUON F. & PINHO R. 2021. Susceptibility of the patients infected with Sars-Cov2 to oxidative stress and possible interplay with severity of the disease. *Free Radic. Biol. Med*. 165: 184-190.

GAO J., ZHOU Q., WU D. & CHEN L. 2021. Mitochondrial iron metabolism and its role in diseases. *Clin. Chim. Acta*. 513: 6-12. DOI: 10.1016/j.cca.2020.12.005.

HATI S. & BHATTACHARYYA S. 2020. Impact of thiol-disulfide balance on the binding of Covid-19 spike protein with angiotensin-converting enzyme 2 receptor. *ACS Omega*. 5(26): 16292-16298. DOI: 10.1021/acsomega.0c02125.

KARKHANEI B., TALEBI E. & MEHRI F. 2021. Evaluation of oxidative stress level: total antioxidant capacity, total oxidant status and glutathione activity in patients with COVID-19. *New Microbes New Infect*. 42: 100897. DOI: 10.1016/j.nmni.2021.100897.

KALEM A., KAYAASLAN B., NESELIOGLU S., ESER F., HASANOGLU I., AYPAK A., AKINCI E., AKCA H., EREL O. & GUNER R. 2021. A useful and sensitive marker in the prediction of COVID-19 and disease severity: *Thiol Free Radic. Biol. Med*. 166: 11-17.

KEFLIE TS. & BIESALSKI HK. 2021. Micronutrients and bioactive substances: Their potential roles in combating COVID-19. *Biol. Trace Elem. Res*. 84: 111103. DOI: 10.1016/j.nut.2020.111103.

LILL R., SRINIVASAN V. & MÜHLENHOFF U. 2014. The role of mitochondria in cytosolic-nuclear iron-sulfur protein biogenesis and in cellular iron regulation. *Curr. Opin. Microbiol*. 22: 111-119. DOI: 10.1016/j.mib.2014.09.015.

LUPON E., LELLOUCH A., ZAL F., CETRULO C. JR. & LANTIERI L. 2021. Combating hypoxemia in COVID-19 patients with a natural oxygen carrier, HEMO 2 Life® (M101). *Med Hypotheses*. 146: 110421. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110421.

MAJEED M., NAGABHUSHANAM K., GOWDA S. & MUNDKUR L. 2021. An exploratory study of selenium status in healthy individuals and in patients with COVID-19 in a south Indian population: The case for adequate selenium status. *Nutrition*. 82: 111053.

MANÈEK-KEBER M., HAFNER-BRATKOVIÈ I., LAINŠÈEK D., BENÈINA M., GOVEDNIK T., OREHEK S., PLAPER T., JAZBEC V., BERGANT V., GRASS V., PICHLMAIR A. & JERALA R. 2021. Disruption of disulfides within RBD of SARS-CoV-2 spike protein prevents fusion and represents a target for viral entry inhibition by registered drugs. *FASEB J*. 35(6): e21651. DOI: 10.1096/fj.202100560R.

MEHRI F., HOSSEIN A., TALEBI E., SOURI B. & ESFAHANI M. 2021.The comparison of oxidative markers between Covid-19 patients and healthy subjects. *Arch. Med. Res*. 7: S0188-4409(21)00126-0.

METE A., KOÇAK K., SARACALOGLU A., DEMIRYÜREK S., ALTINBA[a] O.& DEMIRYÜREK A.2021.Effects of antiviral drug therapy on dynamic thiol/disulphide homeostasis and nitric oxide levels in COVID-19 patients. *Eur. J. Pharmacol*. 907: 174306.

MUHAMMAD Y., KANI Y.,ILIYA S., MUHAMMAD Y., BINJI A., EL-FULATY A.,KABIR M,BINDAWA K. & AHMED A. 2021. Efficiency of antioxidants and increased oxidative stres in COVID-19 patients: A cross-sectional comparative study in Jigawa, Northwestern Nigeria. *SAGE Open Med*. 9:2050312121991246.

NEMETH E., RIVERA S., GABAYAN V., KELLER C., TAUDORF S., PEDERSEN BK. & GANZ T. 2004. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest*. 113(9): 1271-1276. DOI: 10.1172/JCI20945.

NICOLAU J.AYALA L., SANCHÍS P., OLIVARES J., DOTRES K., SOLER A., RODRÍGUEZ I., GÓMEZ L. & MASMIQUEL L. 2021. Influence of nutritional status on clinical outcomes among hospitalized patients with COVID-19. *Clin. Nutr. ESPEN* .43b: 223-229.

PAL A., SQUITTI R., PICOZZA M., PAWAR A., RONGIOLETTI M., DUTTA AK., SAHOO S., GOSWAMI K., SHARMA P. & PRASAD R. 2021. Zinc and COVID-19: *Basis Curr. Clin.Trials*. 199(8): 2882-2892. doi: 10.1007/s12011-020-02437-9.

PALACIOS A., VALDEZ R., DOMÍNGUEZ J., HERRERA H., CASTILLEJOS H., MORENO-CASTAÑEDA L., ESTRADA G., HERNÁNDEZ F., GONZÁLEZ-MARCOS O.,SAUCEDO OROZCO H., MANZANO-PECH L., MÁRQUEZ -VELASCO R., GUARNER - LANS V., PÉREZ-TORRES I. & SOTO M. 2021. Antioxidants and pentoxifylline as coadjuvant measures to standard therapy to improve prognosis of patients with pneumonia by COVID-19. *Comput. Struct. Biotechnol. J*. 19: 1379-1390.

PINCEMAIL J., CAVALIER E., CHARLIER C., CHERAMY-BIEN J., BREVERS E., COURTOIS A., FADEUR M., MEZIANE S., GOFF C., MISSET B., ALBERT A., DEFRAIGNE J. & ROUSSEAU A. 2021. Oxidative Stress Status in COVID-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. a pilot study. *Antioxidants (Basel)*. 10(2): 257.

SHARIF-ASKARI S., SHARIF-ASKARI S. F., MDKHANA B., HUSSAIN ALSAYED H. A., ALSAFAR H., ALRAIS Z. F., HAMID Q. & HALWANI R. 2021. Upregulation of oxidative stress gene markers during SARS-COV-2 viral infection. *Free Radic. Biol. Med*. 172: 688-698.

SALAZAR-LUGO R. 2015. Metabolismo del hierro, inflamación y obesidad. *Saber*. 27(1): 5-16.

SCHAIBLE U. E. & KAUFMANN S. H. 2004 Iron and microbial infection. *Nat. Rev. Microbiol*. (12): 946-953. doi: 10.1038/nrmicro1046.

TONG T. R. 2006. Severe Acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). *Perspect. Med. Virol*., 16: 43–95.

YANLING L. V., CHEN L., LIANG X., LIU X., GAO M., WANG Q., WEI Q. & LIU L. 2021. Association between iron status and the risk of adverse outcomes in COVID-19. *Clin. Nutr*. 40(5): 3462-3469. doi: 10.1016/j.clnu.2020.11.033.

YEAGER C. L., ASHMUN R. A., WILLIAMS R. K., CARDELLICHIO C. B., SHAPIRO L., LOOK A. T. & HOLMES, K.V. 1992. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E. *Nature*. 357: 420-422.

UBERTI F.,RUGA S., FARGHALI M., GALLA R. & MOLINARI C. 2021. á-Lipoic acid (ALA) and palmitoylethanolamide (PEA)

blocks endotoxin-induced oxidative stress and cytokine storm: A possible intervention for COVID-19. *J. Diet.* (Suppl.1). 18: 1-23.

WANG C Y. & BABITT J. L. 2016. Hepcidin regulation in the anemia of inflammation. *Curr. Opin. Hematol.* 23(3): 189-197. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000236.

WENZHONG L., HUALANB L. & COVID-19. 2021. Captures iron and generates reactive oxygen species to damage the human immune system. *Autoimmunity*. 54(4): 213-224. DOI: 10.1080/08916934.2021.1913581

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2020. Pneumonia of unknown cause–China. emergencies preparedness, response, disease outbreak news.

ZENDELOVSKAD., ATANASOVSKA E., PETRUSHEVSKA M., SPASOVSKA K., STEVANOVIKJ M., DEMIRI I. & LABACHEVSKI N. 2021. Evaluation of oxidative stress markers in hospitalized patients with moderate and severe COVID-19. *Rom. J. Intern. Med.* DOI: 10.2478/rjim-2021-0014.

ZHOU F., YU T. & DU R. 2020. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 395: 1054-1062.

ZHOU Y., CHI J., L., W. & WANG Y. 2021. Obesity and diabetes as high-risk factors for severe coronavirus disease 2019 (Covid-19) *Diabetes Metab. Res. Rev*. 37(2): e3377. DOI 10.1002/dmrr.3377.

VARIACIONES DE ELEMENTOS Y COMPUESTOS INHIBIDORES Y FACILITADORES DE LA PRECIPITACIÓN CRISTALINA EN RELACIÓN AL TIPO DE CÁLCULO EN PACIENTES UROLITIÁSICOS

(VARIATIONS OF ELEMENTS AND INHIBITING AND FACILITATING COMPOUNDS OF CRYSTAL PRECIPITATION ACCORDING TO TYPE OF CALCULUS IN UROLITHIC PATIENTS)

WILLIAM JOSÉ VELÁSQUEZ SANZONETTI[1], AMÉRICA BELÉN VARGAS MILANO[1], ALBERTO JOSÉ GARCÍA GARCÍA[1], DIXSON JOSÉ VELÁSQUEZ SANZONETTI[1], LUIS ADELINO MÁRQUEZ SEGURA[1], RAUL SOSA NEGRÍN[2]

[1]Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Fisiología Humana, Cumaná, Venezuela, [2]Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre

E-mail: wjvelasquezs@gmail.com

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar los factores facilitadores e inhibidores de la precipitación cristalina urinaria, por tipo de concreción urinaria, en pacientes urolitiásicos, de la consulta de Urología del hospital universitario Antonio Patricio de Alcalá de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y en individuos controles. Para lograr este fin, se estudiaron 50 individuos controles, masculinos y femeninos, con edades entre 17 y 56 años y 50 pacientes urolitiásicos, masculinos y femeninos entre 14 y 69 años. En ambos grupos se recolectaron orinas de 24 horas, en las cuales se determinaron los parámetros oxalato y citrato y se les tomaron muestras de sangre venosa, en los cuales se realizaron las determinaciones de calcio, fósforo, magnesio, ácido úrico y las hormonas testosterona y estradiol. La prueba estadística *t-Student* mostró diferencias significativas en los parámetros calcio, fósforo, ácido úrico, oxalato, citrato, testosterona y estradiol al ser evaluados en individuos urolitiásicos y controles y el análisis Anova simple, en pacientes urolitiásicos, arrojó diferencias significativas en el ácido úrico y el fósforo en relación al tipo de cálculo. Todo esto permite señalar que, en estos pacientes, los factores facilitadores de la precipitación urinaria (calcio, ácido úrico y oxalato), predominan sobre los inhibidores (citrato) y que los incrementos de testosterona y las disminuciones de estradiol, en los pacientes nefrolitiásicos analizados, evidencian el efecto litogénico de la testosterona e inhibitorio del estradiol.

Palabras clave: Nefrolitiasis, hormonas sexuales, cristales urolíticos

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the facilitating and inhibiting factors of the urinary crystal precipitation according to the type of urinary concretion, in urolithic patients being

Recibido: 18/08/2021
Aceptado: 07/12/2021

treated at the Urology Consultation Department of the Universitarian Hospital Antonio Patricio de Alcalá and in controls in Cumaná, state of Sucre. To achieve this goal, 50 controls, masculine and feminine, aging between 17 and 56, and 50 urolithic patients, masculine and feminine, aging between 14 and 69 were subjected to study. In both groups, 24-hour urine samples were collected in which the parameters oxalate and citrate were determined, and venous blood samples were taken from them, in which the determinations of calcium, phosphorus, magnesium, uric acid, and the testosterone and estradiol hormones were performed. The t-Student statistical test showed significant differences in the calcium, phosphorus, uric acid, oxalate, citrate, testosterone and estradiol parameters when evaluated in urolithic patients and in controls and the simple ANOVA analysis in urolithic patients produced significant differences in in the uric acid and phosphorus in relation to the type of calculus. All this indicates that in these patients the facilitating factors of the urinary precipitation (calcium, uric acid and oxalate), are predominant over the inhibiting factors (citrate), and that the increase of testosterone and the decrease of estradiol in nephrolithic patients under study, demonstrate the lithogenic effect of the testosterone and the inhibiting nature of estradiol.

Key words: Nephrolithiasis, sexual hormones, urolithic crystals.

INTRODUCCIÓN

El carácter multifactorial de la urolitiasis permite deducir que pueden ser diversos los metabolismos que se alteren para iniciar el proceso de formación de cálculos urinarios, los cuales están constituidos por sales de compuestos como ácido úrico, oxalato de calcio, cistina y fosfato e iones monovalentes o divalentes. Lo antes descrito puede fundamentarse en el análisis del pH, urea, creatinina, ácido úrico, oxalato y los electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio analizados en pacientes con calculosis urinaria (Khan 2018; Jiang *et al.* 2020).

El proceso litogénico depende del predominio de sustancias favorecedoras de la precipitación de cristales en la orina sobre los compuestos inhibidores de este proceso. Entre las sustancias precipitantes se encuentran compuestos como el ácido úrico, que precipita en orinas ácidas, el oxalato de calcio, que constituye una sal insoluble en orinas ácidas y las sales fosfáticas, que también forman parte de los compuestos que, frecuentemente, se observan en los cálculos urinarios, de pacientes con orinas alcalinas. En cuanto a las sustancias que previenen la precipitación cristalina, se encuentran el citrato, que actúa como un inhibidor de las sales oxálicas a nivel urinario y es capaz de unirse al calcio y formar citrato de calcio, que es un compuesto soluble en orinas de pH ácido (Cao *et al.* 2016; Yang *et al.* 2017).

Las alteraciones en la secreción de las hormonas hipofisarias juegan un papel importante en el proceso litogénico urinario tal como lo señala la investigación de Kuczera & Kersztejn (1993), quienes ponen en evidencia los incrementos en la secreción de la hormona estimulante de los folículos y en la excreción urinaria de calcio y oxalato y con ello corroboran la participación de esta hormona en la litogénesis. De igual forma, investigaciones realizadas en las hormonas sexuales, en modelos experimentales, de urolitiasis ponen de manifiesto que los andrógenos producen disminución de la eliminación sérica y urinaria de oxalato y de los depósitos de cristales de oxalato de calcio en los riñones y los estrógenos disminuyen los procesos urolíticos. Estos hechos resaltan que la testosterona promueve la formación de cálculos de oxalato de calcio y los estrógenos disminuyen este proceso, poniendo en evidencia la importancia de las hormonas sexuales en la patogéne-

sis de la urolitiasis (GAMBARO *ET AL.* 2017; MCCLINTOCK 2019).

Teniendo en consideración el origen multifactorial de la nefrolitiasis y por consiguiente el gran número de desequilibrios en los mecanismos homeostáticos presentes en los individuos urolitiásicos, surge la necesidad de realizar la presente investigación que tiene como finalidad evaluar las variaciones de los elementos y compuestos inhibidores y facilitadores de lalitogénesis, en torno al tipo de cristal presentes en las concreciones urinarias de los pacientes urolitiásicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra poblacional

Para la ejecución del presente estudio se analizaron 50 muestras de sangre completa y orina de 24 horas provenientes de un grupo de pacientes nefrolitiásicos (21 femeninos y 29 masculinos) con edades comprendidas entre 14 y 69 años, que asistieron a la unidad de Nefrología del hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Simultáneamente se estudiaron 50 individuos aparentemente sanos (27 masculinos y 23 femeninos) con edades entre 17 y 56 años, sin antecedentes ni síntomas de urolitiasis o cualquier otra patología para el momento de la toma de las muestras.

Este estudio se efectuó bajo estrictas normas de la ética médica, según la declaración de Helsinki y de las normas internacionales para las investigaciones biomédicas en las poblaciones humanas, promulgadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (OFICINA PANAMERICANA DE LA SALUD 1990).

Se excluyeron todos los pacientes urolitiásicos con historias clínicas de síndrome metabólico, diabetes mellitus, hiperparatiroidismo, hipercalciuria idiopática e hiperaldosteronismo.

Obtención de las muestras

A cada individuo que participó en esta investigación se le extrajeron 5,00 mL de sangre por punción venosa, bajo estrictas medidas de asepsia, los cuales se colocaron en tubos de ensayo sin anticoagulante. Luego de un tiempo aproximado de 10 minutos, en reposo, a temperatura ambiente, para la retracción del coágulo sanguíneo, se centrifugaron las muestras a 3500 rpm y se obtuvieron los respectivos sueros, que fueron separados con pipetas Pasteur y colocados en tubos de ensayo estériles, para realizar las determinaciones de los parámetros testosterona, estradiol, calcio, fósforo, magnesio y ácido úrico (HENRY 2007).

En todos los casos se tomaron las medidas preventivas para evitar realizar determinaciones en sueros hemolizados e hiperlipémicos que pudieran aportar resultados no confiables en los parámetros cuantificados.

En las muestras de orina de 24 horas de cada paciente, recolectadas tomando en cuenta las normas pertinentes para garantizar una recolección de las muestras adecuadas, se cuantificaron los compuestos oxalato y citrato (HENRY 2007).

Identificación de los cristales presentes en los cálculos urinarios

La identificación de los cristales presentes en los cálculos urinarios se realizó por la técnica de difracción de rayos X. Para ello, se utilizaron las muestras trituradas, que fueron analizadas en el equipo de difracción de rayos X, marca Bruker, modelo D2 PHASER, el cual usa un cátodo de cobre y filtro de níquel, con un voltaje de 40,00 kV y 20,00 mV de intensidad de corriente en el generador de rayos X y mediante la comparación con patrones internos de la base de datos del computador se identificaron los compuestos cristalinos (JENKINS & SNYDER 1996).

Técnicas empleadas

Determinación de la concentración sérica de calcio

La metodología empleada para la determinación del ion calcio fue la de la O-cresolftaleina-complexona, sin desproteinización. El fundamento de este método consiste en que el calcio forma un complejo violeta con O-cresolftaleina-complexona, en medio alcalino, que se puede medir espectrofotométricamente a una longitud de onda de 560 nm. Valores de referencia: (2,20 – 2,60) mmol/L (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de fósforo

Este ion se determinó por metodología espectrofotométrica en la cual el fósforo inorgánico reacciona con molibdato de amonio, en un medio ácido, para formar un complejo de fosfomolibdato que se mide a una longitud de onda de 340 nm, su intensidad es directamente proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra. Valores de referencia: (2,50 – 4,80) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de magnesio

Los iones magnesio fueron cuantificados por su reacción con el magón sulfonado, en medio alcalino, formando un complejo de color rosado cuya intensidad se mide a 505 nm y es proporcional a la concentración de iones magnesio presentes en la muestra. Valores de referencia: (1,30 – 2,50) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de ácido úrico

La concentración de este ácido se determinó por el método de Caraway modificado en el cual la cantidad de este ácido, en medio alcalino reduce el fosfotungstato de sodio produciendo azul de tungsteno, obteniéndose una coloración azul cuya intensidad, medida, espectrofotométricamente a 630 nm, es proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra. Valores de referencia: Hombres: (3,56 – 7,19) mg/dL; Mujeres: (2,81 – 6,38) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la concentración urinaria de oxalato

La valoración del parámetro oxalato se realizó por metodología espectrofotométrica en la cual el oxalato es oxidado a dióxido de carbono y peróxido de hidrógeno por acción de la enzima oxalato oxidasa. El peróxido de hidrógeno reacciona con el compuesto 3-metil-2-benzotiozolinona hidrazona y con el ácido 3-dimetil aminobenzoico en presencia de la enzima peroxidasa de levadura, produciendo la indamina coloreada con un máximo de absorbancia de 590 nm. La intensidad de color producido es directamente proporcional a la concentración de oxalato en la muestra. Valores de referencia: Hombres: (7,00 – 44,00) mg/24h; Mujeres: (4,00 – 31,00) mg/24h (Henry 2007).

Determinación de la concentración urinaria de citrato

La cuantificación del parámetro citrato urinario se efectuó por metodología enzimática en el cual el citrato se transforma en oxalacetato y acetato en una reacción catalizada por la enzima citrato liasa. La cantidad de oxalacetato generado en la reacción es equimolar al citrato presente en la muestra (se forma una molécula de oxalacetato por una molécula de citrato). El oxalacetato se puede descarboxilar espontáneamente a piruvato. En presencia de las enzimas L-malato deshidrogenasa y L-lactato deshidrogenasa, el oxalacetato y el producto de su descarboxilación (piruvato), son reducidos a L-malato y L-lactato respectivamente. La cantidad del dinucleótido de nicotinamida oxidado en las reacciones es estequiometricamente igual a la cantidad de citrato. El dinucleótido de nicotinamida oxidado es determinado a 340 nm. Valores de referencia: Adultos: (0,40 – 3,40)

mmol/24h (HENRY 2007).

Determinación de la concentración sérica de la hormona testosterona

La determinación de esta hormona se realizó por metodología competitiva que emplea un anticuerpo monoclonal dirigido específicamente hacia la hormona testosterona, que es liberada por medio del ácido 8-anilino-1-naftalensulfónico y norgestrel y compite con el derivado de la testosterona, incorporado exógenamente, marcado con quelato de rutenio para ocupar los puntos de fijación del anticuerpo biotinilado. Los resultados de la concentración de la concentración de la hormona testosterona son obtenidos por medio de una curva de calibración realizada en el sistema, mediante una calibración a dos puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo. Valores de referencia: Hombres: (2,80 – 8,00) ng/mL; Mujeres: (0,06 – 0,82) ng/mL; Niños: entre 13 a 17 años (0,28 – 11,10) ng/mL (HENRY 2007).

Determinación de la concentración sérica de la hormona estradiol

La concentración de esta hormona se obtuvo por el método de inmunoquimioluminiscencia en fase solida de unión competitiva, el cual consiste en una reacción antígeno-anticuerpo de unión competitiva. La reacción se produjo al mezclar las partículas paramagnéticas (fase sólida) recubiertos con los anticuerpos de captura, los anticuerpos monoclonales, el conjugado (compuesto acoplado a la fosfatasa alcalina) y la muestra en la cubeta de reacción. El conjugado compite, covalentemente unido a las partículas paramagnéticas, con el compuesto de la muestra del paciente para limitar los sitios de unión en una cantidad reducida del anticuerpo específico, el cual, en combinación con los reactivos: sustrato (dioxetano) y la enzima fosfatasa alcalina, en contacto con la muestra y el analizador proporcionan la reacción quimioluminiscente, debido a que el sustrato se desfosforila y emite luz. La intensidad de luz producida fue inversamente proporcional a la concentración de la hormona estradiol en la muestra. La lectura se realizó por unidades relativas de luz (URL). Valores de referencia: Mujeres: Periodo preovulatorio: menor de 50,00 pg/mL; Fase folicular: (150,00 – 500,00) pg/mL; Fase luteinizante: (100,00 – 200,00) pg/mL; Fase lútea: (24,50 – 195,00); Hombres: (10,00 – 80,00) pg/mL (HENRY 2007).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en esta investigación cumplieron con los criterios de homogeneidad, (prueba de Levene) y normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov Lilliefors) lo que permitió aplicarles la prueba estadística *t-Student*, con el propósito de establecer las posibles diferencias significativas entre los parámetros calcio, fósforo, magnesio, ácido úrico, oxalato, citrato, testosterona y estradiol, medidos en los individuos urolitiásicos y controles y análisis de varianza simple para conocer las posibles diferencias significativas en los parámetros antes señalados, medidos en los pacientes urolitiásicos, en relación al tipo de concreción urinaria. En los casos donde se observaron diferencias significativas se aplicó la prueba *a posteriori* de la diferencia mínima significativa (DMS). El nivel de confiabilidad del análisis estadístico, empleado en este estudio, fue del 95%. (SOKAL Y ROHLF, 1979). Todas estas pruebas estadísticas fueron realizadas empleando el programa estadístico IBM SPSS statistics 20.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores promedio de la concentración del ion calcio, medidos en individuos urolitiásicos y controles (**Tabla 1**), muestran diferencias significativas (t= 2,16; p<00,05) con aumentos en los pacientes con calculosis urinaria. Las concentraciones de este catión, evaluadas en los pacientes nefrolitiásicos en relación al tipo de cálculo urinario (**Tabla 2**) no mostraron dife-

rencias significativas en relación al tipo de concreción urinaria (Fs= 0,95 ns, p>0,05).

Los incrementos significativos observados en los valores promedio del ion calcio medidos en los pacientes urolitiásicos en relación a las encontradas en los individuos controles pueden deberse, probablemente, a un aumento en la secreción y/o función de la vitamina D para absorber calcio a nivel intestinal o incrementos en la secreción de la hormona paratiroidea y con ello lograr mayor resorción de calcio a nivel óseo que se traduce en un aumento sérico de este catión en estos pacientes. Otra posible explicación a estos resultados viene dada por el hecho de que estos pacientes puedan cursar con desequilibrios en la función reabsortiva de calcio por acción de los mecanismos de transporte pasivos y activos de este ion divalente a nivel de los túbulos renales (Odvina *et al*. 2007).

En relación a los resultados obtenidos en el presente estudio en la evaluación del ion calcio en los pacientes nefrolitiásicos analizados e esta investigación en relación al tipo de concreciones, debe señalarse que este factor no afecta significativamente las concentraciones del calcio, pero la ligera tendencia a aumentar de este catión en los pacientes urolitiásicos con calculosis oxálica coinciden con las investigaciones realizadas por Gamage *et al*. (2020), quienes encontraron concentraciones de calcio con incrementos leves en los individuos analizados en relación al tipo de cálculos urinarios.

Las concentraciones promedio de fósforo observadas en individuos controles y urolitiásicos (**Tabla 1**) arrojaron diferencias significativas (t= 7,14; p<0,05), con valores disminuidos en las concentraciones de fósforo en los individuos con calculosis urinaria. Este ion, evaluado en pacientes urolitiásicos, en relación al tipo de concreción urinaria (**Tabla 2**), arrojó diferencias significativas (Fs= 4,95; p<0,05) en las concentraciones de fósforo en estos individuos, con la formación de dos grupos, mostrados por la prueba *a posteriori* DMS, el primero constituido por los valores promedio de la concentración de fósforo en los pacientes con cálculos de ácido úrico y el segundo por las concentraciones de fósforo en los pacientes con cálculos mixtos (oxalato/ácido úrico) y de oxalato.

Los resultados, en torno a los incrementos significativos encontrados en las concentraciones séricas de fósforo en los pacientes urolitiásicos, en relación a los individuos controles y con concreciones de oxalato de calcio y mixtos (oxalato/ácido úrico), pueden explicarse señalando que, probablemente, estos pacientes presenten aumentos en la reabsorción tubular de fósforo y/o un aumento en la secreción de la hormona paratiroidea, favoreciendo la resorción de calcio y fósforo a nivel óseo, incrementando de, esta forma, sus niveles a nivel sanguíneo (Imran *et al*. 2017). Otra posible explicación a estos resultados puede estar relacionada con la ingesta de alimentos con alto contenido de fósforo como el pescado, que experimentan estos pacientes, confirmada por la encuesta realizada

Tabla 1. Valores promedio de la concentración sérica de los parámetros calcio (mmol/L), fósforo (mg/dL), magnesio (mg/dL), ácido úrico (mg/dL), oxalato (mg/24h), citrato (mmol/24h), testosterona (ng/mL) y estradiol (pg/mL), medidos en individuos controles y urolitiásicos provenientes de la unidad de Nefrología del servicio autónomo hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, estado Sucre.

Grupos	Ca (*)	P (*)	Mg (ns)	AU (*)	Ox (*)	CIT (*)	TES (ns)	ESTR (ns)
C	1,94 ± 01,17	1,06 ± 1,24	2,00 ± 0,48	4,93 ± 0,41	19,55 ±4,45	2,14 ± 0,21	2,47 ± 1,82	27,82 ± 14,82
U	2,01 ± 0,15	1,27 ± 0,08	0,78 ± 0,08	7,40 ± 0,43	32,80 ±3,22	0,37 ± 0,42	2,53 ± 1,95	26,47 ± 14,20

Datos expresados en valores promedio ± desviación estándar. Ca: calcio; P: fósforo; Mg: magnesio; AU: ácido úrico; Ox: oxalato; CIT: citrato; TES: testosterona; ESTR: estradiol; ns: diferencias no significativas (p>0,05); *: diferencias significativas (p<0,05).

a estos individuos nefrolitiásicos, en la que se aprecia que el 36,00% de los pacientes urolitiásicos consumen pescado (**Tabla 3**).

Los niveles séricos de magnesio que se encontraron en los individuos controles y urolitiásicos (**Tabla 1**) analizados en esta investigación muestran diferencias no significativas (t= 0,91; p>0,05). En cuanto a las concentraciones sanguíneas de este electrolito, cuantificadas en los pacientes con nefrolitiasis, en relación al tipo de cálculo urinario (**Tabla 2**), se observa la ausencia de diferencias significativas (Fs= 1,54; p>0,05), no obstante, resulta pertinente señalar las disminuciones de este catión en los individuos con concreciones de oxalato de calcio en el tracto urinario.

La ausencia de diferencias significativas al evaluar las concentraciones séricas promedio de magnesio en los individuos urolitiásicos y controles y en los pacientes con urolitiasis en relación al tipo de concreción urinaria, ponen en evidencia la escasa participación que tiene el ion magnesio en el proceso urolítico, en pacientes con calculosis urinaria de ácido úrico y/u oxalato. No obstante, resulta pertinente señalar que los valores promedio de magnesio con tendencia a la disminución que se muestran en estos individuos con nefrolitiasis, denotan que estos pacientes presentan decrementos en los elementos que sirven como inhibidores de los compuestos que facilitan la precipitación cristalina en la orina como el ion oxalato, dado que el magnesio compite con el calcio para unirse al oxalato y formar oxalato de magnesio que resulta ser soluble en las orinas ácidas, limitando así la probabilidad de formación de oxalato de calcio que representa una sal insoluble en orinas ácidas, que precipita y forma concreciones de oxalato de calcio en el tracto urinario de estos pacientes (JOHNSON *ET AL.* 2018).

El ácido úrico valorado, a nivel sanguíneo, en individuos urolitiásicos y controles (**Tabla 1**), muestra diferencias significativas (t= 29,12; p<0,05), con valores promedio amentados en los pacientes con calculosis urinaria. De igual manera, las concentraciones de ácido úrico, cuantificadas en pacientes nefrolitiásicos en torno al tipo de concreción urinaria a nivel renal (**Tabla 2**), permiten observar diferencias significativas en la cuantificación del ácido úrico (Fs= 93,86; p<0,05) en relación al tipo de cálculo del sistema urinario, con la estructuración de tres grupos, el primero formado por las concentraciones promedio de ácido úrico en los pacientes con cálculos de oxalato, el segundo integrado por los niveles de ácido úrico en los pacientes con cálculos mixtos (oxalato de calcio/ ácido úrico) y el tercero constituido por las concentraciones promedio de ácido úrico en los pacientes nefrolitiásicos con concreciones úricas.

Las concentraciones incrementadas de ácido úrico, que se muestran en los pacientes urolitiásicos que participaron en este estudio y en esos mismos pacientes con concreciones de ácido úrico, pueden ser explicadas, probablemente, por un incremento en la degradación de las purinas, una disminución en la eliminación de este ácido por el tracto urinario como consecuencia de desequilibrios en los procesos de reabsorción y secreción tubulares de ácido úrico a nivel renal, alteraciones endocrinas o metabólicas tales como diabetes mellitus o acidemia, desequilibrios en la actividad de la enzima xantina oxidasa, decrementos de los inhibidores de la precipitación urinaria y ciertos factores alimenticios como dieta hiperproteica y/o rica en espárragos, espinaca, frijoles, guisantes, lentejas, avena, coliflor y hongos y otros, consumidos por los individuos urolitiásicos estudiados en el presente estudio, por consumo excesivo de carnes rojas (60,00% de los pacientes urolitiásicos de este estudio), levaduras (72,00%) (datos recopilados en una encuesta aplicada a estos pacientes y mostrados en la **Tabla 3**), que incrementan la síntesis y producción del ácido úrico, a nivel sanguíneo, y que traen como consecuencia situaciones de saturación, precipitación, nucleación, agregación y constitución de concreciones úricas en todo el tracto

urinario de estos pacientes (Kuroczycka-Saniutycz *et al*. 2015; Lee *et al*. 2016; Nielsen *et al*. 2017; Moe & Xu 2018).

Las concentraciones promedio urinarias de oxalato, cuantificados en individuos con cálculos urinarios y controles (**Tabla 1**), permiten observar diferencias significativas (t= 29,12; p<0,05) con aumentos en los pacientes nefrolitiásicos. Las concentraciones de este compuesto, analizadas en los pacientes urolitiásicos en torno al tipo de cálculo urinario (**Tabla 2**) no mostraron diferencias significativas al ser evaluadas en relación a esta variable (tipo de concreción: Fs= 0,54 ns; p>0,05).

Las explicaciones a los incrementos significativos de los niveles urinarios promedio de oxalato que se observan en los pacientes urolitiásicos pueden ser explicados señalando que, posiblemente, estos individuos cursen con alteraciones en las rutas metabólicas de la síntesis de oxalato, lo que ocasionaría incrementos en los niveles sanguíneos y urinarios de este compuesto litogénico en estos pacientes. Además, resulta importante expresar que estos incrementos de oxalato urinario, en los pacientes nefrolitiásicos, pueden deberse, probablemente, al hecho de que estos pacientes consumen mayor cantidad de frutas, vegetales (tomate: 76,00%) y hortalizas (coles: 16,00%, remolacha 16,00%), las cuales tienen un alto contenido de oxalato (información obtenida de los pacientes con nefrolitiasis que participaron en esta investigación, señalados en la **Tabla 3**), que puede ser absorbido en el tracto digestivo, a nivel del colon, por difusión pasiva o por trasporte activo, aumentando de esta forma, la absorción de oxalato debido al incremento de la permeabilidad de la mucosa colónica al oxalato, que una vez que se incorpora a la circulación sanguínea y es filtrado por la membrana de filtración glomerular, favorece la saturación urinaria de oxalato, el cual se une al ion calcio, a nivel urinario, para conformar la sal de oxalato de calcio, compuesto insoluble en orinas ácidas, que favorece, de esta manera su precipitación, aglomeración y formación de concreciones en el tracto urinario de estos individuos (Lee & Cho 2016; Moe & Xu 2018).

Los valores promedio de citrato encontradas en pacientes urolitiásicos e individuos controles (**Tabla 1**) arrojaron diferencias significativas (t= 49,94; p<0,05), con disminuciones en los niveles de citrato en los pacientes con concreciones urinarias. Este compuesto, analizado en pacientes urolitiásicos, en torno al tipo de cálculo urinario (**Tabla 2**), muestra diferencias no significativas en las concentraciones de citrato en estos individuos en torno al tipo de cálculo renal.

.Las disminuciones significativas de las concen-

Tabla 2. Valores promedio de la concentración sérica de los parámetros calcio (mmol/L), fósforo (mg/dL), magnesio (mg/dL), ácido úrico (mg/dL), oxalato (mg/24h), citrato (mmol/24h), testosterona (ng/mL) y estradiol (pg/mL), en relación al tipo de concreción urinaria, medidos en individuos urolitiásicos provenientes de la unidad de Nefrología del servicio autónomo hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, estado Sucre.

Elementos y compuestos inhibidores y facilitadores de la precipitación urinaria								
Cálculo	Ca (ns)	P (*)	Mg (ns)	AU (*)	Ox (ns)	CIT (ns)	TES (ns)	ESTR (ns)
CAU	1,90 ± 01,16	1,23 ± 0,09^a	0,80 ± 0,07	7,94 ± 0,24^c	33,40 ±3,94	0,38 ± 0,17	1,99 ± 1,82	30,14 ± 0,31
COx	1,97 ± 0,18	1,27 ± 0,08^b	0,76 ± 0,09	7,00 ± 0,18^a	32,71 ±2,87	0,33 ± 0,12	3,22 ± 1,98	41,34 ± 0,37
COx/AU	1,93 ± 0,17	1,24 ± 0,08^b	0,80 ± 0,09	7,42 ± 0,10^b	32,29 ±3,38	0,41 ± 0,11	2,46 ± 1,98	20,67 ± 0,34

Datos expresados en valores promedio ± desviación estándar. Ca: calcio; P: fósforo; Mg: magnesio; AU: ácido úrico; Ox: oxalato; CIT: citrato; TES: testosterona; ESTR: estradiol; CAU: cálculos ácido úrico; COx: cálculos de oxalato de calcio; COx/AU: cálculos mixtos de oxalato de calcio y ácido úrico; a, b, c: grupos arrojados por la prueba a posteriori de la diferencia mínima significativa ns: diferencias no significativas (p>0,05); *: diferencias significativas (p<0,05)

traciones urinarias de citrato observadas en los pacientes urolitiásicos analizados en este estudio pueden tener su explicación, probablemente, en la presencia de cuadros de acidosis tubular distal completa, acidemia metabólica por pérdida de álcali vía intestinal que pueden originar malabsorción de citrato, hipopotasemia, dietas ricas en proteínas de origen animal, alto consumo de sodio como consecuencia de la bicarbonaturia que resulta de la expansión del líquido extracelular ocasionada por el exceso de sodio, que provoca leve acidemia metabólica, hiperaldosteronismo primario por la hipopotasemia crónica, infección urinaria provocada por la degradación del citrato por enzimas bacterianas, ejercicio físico intenso y ayuno prolongado, que disminuyen la excreción de citrato al incrementar su transporte en el túbulo proximal y por acidemia sistémica que favorecen cuadros de hipocitraturia (LEE & CHO 2016). De igual forma, se debe resaltar que el citrato, uno de los compuestos que inhiben la precipitación oxálica en la orina, compite con el oxalato por su unión con el calcio para formar citrato cálcico, que constituye una sal soluble en orinas ácidas, pero al encontrarse éste disminuido en orina, como se muestra en estos pacientes, aumenta la posibilidad de formación de oxalato de calcio en el tracto urinario de estos pacientes (SHEN & ZHANG 2018).

Tabla 3. Información referida a medicamentos recibidos, antecedentes patológicos, hábitos alimenticios, ingesta diaria de agua (L/24h) y hábitos tabáquicos, obtenida de los pacientes urolitiásicos que participaron en la presente investigación.

TRATAMIENTOS RECIBIDOS			
Laxantes:			0,00%
Diuréticos:			10,00%
Anti-Inflamatorios:			16,00%
Vitamina C:			10,00%
Calcio:			16,00%
Citrato de potasio:			44,00%
Gluconato de Magnesio:			0,00%
Celulosa de fosfato de sodio:			0,00%
Ortofosfato:			0,00%
Alopurinol:			0,00%
ANTECEDENTES			
Han sufrido de cálculos anteriormente:			86,00%
Han sufrido de infecciones renales:			78,00%
Problemas urinarios:			70,00%
Familiares que han sufrido de cálculos:			80,00%
HÁBITOS ALIMENTICIOS			
Carnes	60,00 %	Remolacha	16,00%
Lácteos	44,00 %	Acelgas	0,00%
Quesos	64,00 %	Tomates	76,00%
Coles	16,00 %	Manzanas, etc.	6,00%
Sardinas	36,00 %	Plátanos	92,00%
Higos secos	0,00 %	Cacao, Chocolate	12,00%
Germen de trigo	72,00%		
LÍQUIDO QUE INGIERE DIARIAMENTE			
Agua: <1,00 L 38,00 % ; 1,00 – 1,50 L 56,00 % ; >1,5 Litros			6,00%
Bebidas gaseosas:	6,00 %	Licores:	0,00%
Cerveza:	0,00 %	Café:	46,00%
Infusiones:	6,00%	Jugos:	18,00%
HÁBITOS TABÁQUICOS			
SI	20,00%	NO	80,00%

Los resultados de las concentraciones de citrato cuantificados en los pacientes nefrolitiásicos que participaron en este estudio, en atención al tipo de concreción urinaria, evidencian que estas concentraciones de citrato se encuentran disminuidas en los individuos con nefrolitisis de oxalato y mixtos (oxalato de calcio/ ácido úrico), respaldado, de esta forma, el hecho de que la calculosis urinaria se encuentre presente en los individuos con hipocitraturia con incrementos en los niveles de oxalato (UNTAN *ET AL.* 2021). Todos estos signos se encuentran presentes en los pacientes urolitiásicos estudiados en esta investigación.

La valoración sérica de la hormona testosterona en individuos con calculosis urinaria y controles (masculinos en ambos casos) (**Tabla 1**), mostró diferencias no significativas (t= 0,17; p>0,05) al igual que las concentraciones de esta hormona, cuantificadas en pacientes nefrolitiásicos (Fs= 0,61; p>0,05) en torno al tipo de concreción urinaria (**Tabla 2**).

Los aumentos de los niveles de la hormona testosterona, medidos en pacientes urolitiásicos masculinos en comparación con los encontrados en individuos controles masculinos resultan ser muy lógicos, debido a las diferencias significativas de esta hormona en cuanto al género, pero también, estos hallazgos resultan útiles para

explicar que, posiblemente, los aumentos de testosterona que arrojaron los pacientes urolitiásicos masculinos favorecen la formación de cálculos urinarios debido a que esta hormona incrementa la actividad de la enzima glicolato oxidasa, la cual actúa facilitando la transformación del compuesto glicolato en oxalato, compuesto que representa un factor de riesgo para la litogénesis en los individuos nefrolitiásicos masculinos (Gupta *et al*. 2016). Lo antes indicado confirma la incidencia 4:1 de la nefrolitiasis en favor de los individuos del sexo masculino.

La cuantificación de los niveles séricos de la hormona estradiol en individuos con urolitiasis del sexo femenino y controles féminas y en pacientes nefrolitiásicos en relación al tipo de concreción urinaria (**Tablas 1, 2**), arrojaron diferencias no significativas (t= 0,46 ns; p>0,05; Fs= 0,76 ns; p>0,05) en ambos casos.

El análisis de estradiol, valorada en mujeres con litiasis renal e individuos controles femeninas, permite indicar que las concentraciones de esta hormona en estos dos grupos de individuos no difieren en forma significativa, sin embargo, las concentraciones de estradiol con tendencia a disminuir, encontrados en las mujeres urolitiásicas, en relación a las féminas controles, ponen en evidencia que estas pacientes cursan con disminuciones de sustancias inhibidoras de la litogénesis como el ion citrato, cuya formación y liberación a la circulación sanguínea es facilitada por la hormona estradiol (Collins *et al*. 2017).

Todo lo anteriormente mencionado permite indicar, basados en los resultados encontrados en estos pacientes urolitiásicos estudiados, que la patología nefrolitiásica tiene su origen en la saturación y en el predominio de elementos y compuestos urolíticos como calcio y ácido úrico y los iones oxalato y fosfato sobre los inhibidores de este proceso como el magnesio y el citrato.

CONCLUSIONES

Los incrementos en las concentraciones séricas de calcio y ácido úrico y urinarias del ion oxalato, aunadas a las disminuciones de las concentraciones del ion citrato urinario, observadas en los pacientes urolitiásicos, permiten indicar que las sustancias facilitadoras de la precipitación urinaria de compuestos cristalinos predominan sobre las sustancias que inhiben la formación de sales litogénicas en el tracto urinario de estos pacientes.

Los aumentos sanguíneos de la hormona testosterona y los decrementos de estradiol, encontrados en los individuos con nefrolitiasis analizados, ponen de manifiesto la posible participación de las hormonas sexuales en la síntesis de compuestos litogénicos (testosterona) y en la inhibición de la formación de los mismos (estradiol).

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la empresa Servolab Overseas Inc. por facilitar la identificación cristalográfica de las concreciones urinarias de los pacientes que participaron en este estudio. De igual forma, se agradece al profesor Rafael Martín Pardo Castillo, docente del departamento de Idiomas Modernos del núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente, por su aporte en la traducción del resumen de este trabajo al idioma inglés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beckman C. 2003. Beckman acces inmunoassay system. Beckman Instruments, Inc., EE.UU.

Cao Y., Liu W., Hui L., Zhao J., YANG X., Wang Y. & NIU H. 2016. Renal tubular injury induced by ischemia promotes the formation of calcium oxalate crystals in

rats with hyperoxaluria. *Urolithiasis.* 44(5): 389-397.

Collins D., Mulka K., Hoenerhoff M., Taichman R. & Villano J. 2017. Clinical assessment of urinary tract damage during sustained-release estrogen supplementation in mice. *Comp. Med.* 67(1): 11-21. PMID: 28222835; PMCID: PMC5310620.

Gamage K., Jamnadass E., Sulaiman S., Pietropaolo A., Aboumarzouk O. & Somani B. 2020. The role of fluid intake in the prevention of kidney stone disease: A systematic review over the last two decades. *Turk. J. Urol.* 46(Supp. 1): S92-S103. doi: 10.5152/tud.2020.20155. Epub 2020 Jun 5. PMID: 32525478; PMCID: PMC7731957.

Gambaro G., Croppi E., Bushinsky D., Jaeger P., Cupisti A., Ticinesi A., Mazzaferro S., D'Addessi A. & Ferraro P. 2017. The Risk of chronic kidney disease associated with urolithiasis and its urological treatments: A review. *J. Urol.* 198(2): 268-273. doi: 10.1016/j.juro.2016.12.135. Epub 2017 Mar 10. PMID: 28286070.

Gupta K., Gill G. & Mahajan R. 2016. Possible role of elevated serum testosterone in pathogenesis of renal stone formation. *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* 6(4): 241-244.

HENRY J. 2007. El laboratorio en el diagnóstico clínico. Marbaán Librod. S.L., Madrid, España.

Imran K., Zafar M., Ozair U., Kha S. & Rizvi S. 2017. Metabolic risk factors in pediatric stone formers: a report from an emerging economy. *Urolithiasis.* 45(4): 379-386.

Jenkins R. & Snyder R. 1996. Introduction to X ray poder diffractometry. Wiley-Interscience Pub., New York, USA, pp. 1-22.

Johnson R., Perez-Pozo S., Lopez Lillo J., Grases F., Schold J., Kuwabara M., Sato Y., Andres Hernando A., Garcia G., Jensen J., Christopher Rivard C., Sanchez-Lozada L., Roncal C. & Lanaspa M. 2018. Fructose increases risk for kidney stones: Potential role in metabolic syndrome and heat stress. Randomized controlled trial. *BMC Nephrol.* 19(1): 315.

Jiang K., Hu J., Luo G., Song D., Zhang P., Zhu J, & SUN F. 2020. miR-155-5p promotes oxalate- and calcium-induced kidney oxidative stress injury by suppressing MGP expression. *Oxid. Med. Cell Longev.* Mar 4:5863617. doi: 10.1155/2020/5863617.

Khan A. 2018. Prevalence, pathophysiological mechanisms and factors affecting urolithiasis. *Int. Urol. Nephrol.* 50(5): 799-806.

Kuczera M. & Kersztejn M. 1993. Behavior of sex hormone and gonadotropin secretion in men with active nephrolithiasis. *Endokrinol. Pol.* 44(4): 539-547.

Kuroczycka-Saniutycz E., Porowski T., Protas P., Pszczó³kowska M., Porowska H., Kirejczyk J. & Wasilewska A. 2015. Does obesity or hyperuricemia influence lithogenic risk profile in children with urolithiasis?. *Pediatr. Nephrol.* 30(5): 797-803.

Lee S. & CHO H. 2016. Metabolic features and renal outcomes of urolithiasis in children. *Ren. Fail.* 38(6): 927-932.

Lee J., Ahn J., Hwang J., Han S., Lee J., Kin J., Lee S., Na J., Lim H., Kim J., Rha S., Park

C., Seo H., Oh D, & KIM E. 2016. Reletionship between uric acid and blood pressure in different age groups. *Clin. Hypert*. 21: 14.

McClintock T., Valovska M., Kwon N., Cole A., Jiang W., Kathrins M., Bhojani N., Haleblian G., Koehlmoos T., Haider A., Basaria S. & Trinh Q. 2019. Testosterone replacement therapy is associated with an increased risk of urolithiasis. *World J. Urol*. 37(12): 2737-2746. doi: 10.1007/s00345-019-02726-6. Epub 2019 Mar 23. PMID: 30903351.

Moe O. & XU L. 2018. Hyperuricosuric calcium urolithiasis. *J. Nephrol*. 31(2): 189-196.

Nielsen S., Bartels E., Henriksen M., Waehrens E., Gudbergsen H., Bliddal H., Astrup A., Knop F., Carmona L., Taylor W., Singh J., Perez-Ruiz F., Kristensen L. & Christensen R. 2017. Weight loss for overweight and obese individuals with gout: a systematic review of longitudinal studies. *Ann. Rheum. Dis*. 76(11): 1870-1882.

Odvina C., Sakhaee K., Heller H., Peterson R., Poindexter J. & Padalino P. 2007. Biochemical characterization of primary hyperparathyroidism with and without kidney stones. *Urol. Res*. 35(3): 123-128.

Oficina Panamericana de la Salud. 1990. Bioética. Boletín de la Oficina Panamericana de la Salud. Vol. 108.

Shen J. & Zhang X. 2018. Potassium citrate is better in reducing salt and increasing urine pH than oral intake of lemonade: A cross-over study. *Ned. Sci. Monit*. 24: 1924-1929.

Sokal R. y Rohlf F. 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ed. H. Blume Ediciones, Madrid, España.

Üntan Ý., Üntan S., Tosun H. & Demirci D. 2021. Metabolic risk factors and the role of prophylaxis in pediatric urolithiasis. *J. Pediatr. Urol*. 17(2): 215.e1-215.e6. doi: 10.1016/j.jpurol.2020.12.003. Epub 2020 Dec 6. PMID: 33342680.

Yang D., Tiselius H., Lan C., Chen D., Chen K., Ou L., Liu M., Xu S., Zeng G., Lei M. & Wu W. 2017. Metabolic disturbances in chinese children with urolithiasis: A single center report. *Urolithiasis*. 45(3): 285-290.

SOLUCIONES DE DIFRACCIÓN

D2 PHASER

EL GIGANTE DE SOBREMESA

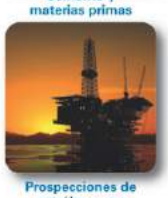
BRUKER



- Identificación y cuantificación de fases.
- Análisis de estructuras cristalinas.
- Consumo mínimo de energía eléctrica (650 w).
- No requiere agua de refrigeración.
- Tubo sin envejecimiento significativo, vida útil prácticamente indefinida.
- Mínimo espacio necesario.
- Diseño de sobremesa, integrado y compacto.
- Goniómetro de vanguardia con diseño innovador.
- Monitor/ordenador integrado.
- Software DIFFRAC. SUITE, de última generación
- Detectores con tecnología de vanguardia.

Cemento y materias primas

Minerales y minería


Prospecciones de petróleo y gas


Cerámicas


Química y catalizadores


Investigación y educación


Productos farmacéuticos


Medio ambiente

Nuestro **D2 PHASER** abre las puertas a una moderna **DRX** para usted. Esto significa análisis de fases cualitativo y cuantitativo, investigación de polimorfismo y determinación de la cristalinidad, en todo el ámbito de la investigación estructural, todo ello de forma rápida, sencilla, eficiente y de alta calidad.

D2 PHASER ofrece también soportes para cantidades pequeñas de muestra, de baja absorción y de débil difracción, filtros y muestras sensibles al entorno, y para analizar materiales tendentes a mostrar una orientación preferente.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

ALPHA II
Espectrómetro FT-IR

BRUKER

EL EQUIPO INFRARROJO MÁS COMPACTO DEL MERCADO

Para ser usado en cualquier laboratorio, para identificación, cuantificación y validación de módulos, control de calidad o investigación



ALPHA II

- Diseño moderno y robusto.
- Fácil adaptación a todos los tipos de muestras.
- Interferómetro RockSolid™ anti vibración (vida útil >10 años)
- Fuente CenterGlow™ (vida útil > 5 años.
- Láser de diodo (vida útil > 10 años).
- Funcionamiento y software intuitivos.
- Opcional: PC táctil integrado.
- Intercambio inteligente de módulos. (DRIFT, ATR, GAS, NBR)

ALPHA II

Tiene aplicaciones en:

Pregunte por el paquete de garantía extendida hasta 5 años.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

VARIACIONES ELECTROLÍTICAS Y ENZIMÁTICAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA HEMODIALIZADOS DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE

(ELECTROLYTIC AND ENZYMATIC VARIATIONS IN HEMODIALIZED PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE FROM CUMANA CITY, SUCRE STATE)

AMÉRICA BELÉN VARGAS MILANO[1], WILLIAM JOSÉ VELÁSQUEZ SANZONETTI[2], NIURVIS MARÍA SALMERÓN RODRÍGUEZ[1], CATHERINE DEL VALLE CABALLERO GUERRA[1], ANA TERESA ACOSTA ROJAS[1], NATHALY GREGORIA LOYO ZAPATA[1], FELIANNY URBANEJA CAMPOS, CARLOS ANDRÉS ARANDIA SIFONTES[3], MERLY YELITZE GUZMÁN DE LA ROSA[3]

[1]Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Enfermería, Laboratorio de Fisiología Humana, Cumaná, Venezuela, [2]Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Fisiología Humana, Cumaná, Venezuela, [3]Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, Unidad de Diálisis "Dr. José Maza Carvajal"

E-mail: americabelen2@gmail.com

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar las variaciones de los parámetros electrolíticos y enzimáticos, medidos en muestras sanguíneas procedentes de individuos controles y pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) provenientes de la unidad de diálisis del hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (HUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Para lograr este propósito se obtuvieron 20 muestras sanguíneas de los individuos controles y 20 de los pacientes con ERC, que se depositaron en tubos de ensayo estériles, sin anticoagulantes, se centrifugaron y se obtuvieron los sueros para realizar la determinación de los electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio y la actividad de las enzimas alanina aminotransferasa (AlAT), aspartato aminotransferasa (AsAT), creatina fosfoquinasa (CFQ) y lactato deshidrogenasa (LDH). El análisis estadístico *t-Student* arrojó diferencias significativas al evaluar las concentraciones séricas de los iones sodio, potasio, cloruro, fósforo y magnesio y la actividad de las enzimas AlAT, CFQ y LDH con valores aumentados en el grupo de pacientes con ERC hemodializados en todos estos parámetros y diferencias no significativas en la valoración de la actividad de la enzima AsAT con valores disminuidos en la actividad de esta enzima en los pacientes con ERC. Todo lo antes expuesto permite señalar que, en estos individuos nefrópatas analizados, los cuadros clínicos de retención de agua y electrolitos y los incrementos en las actividades de las enzimas AlAT, CFQ y LDH son producto de las alteraciones morfo-funcionales en la membrana de filtración glomerular y en los túbulos renales y a procesos inflamatorios propios de la ERC o a patologías hepáticas y cardiacas simultaneas a la nefropatía que no se detectaron a tomaron en cuenta al momento del estudio de cada paciente.

Recibido: 20/08/2021
Aceptado: 01/12/2021

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the variations in electrolyte and enzymatic parameters, measured in blood samples from control individuals and patients with chronic kidney disease (CKD) from the dialysis unit of the university hospital "Antonio Patricio de Alcalá" (HUAPA) of the city of Cumaná, Sucre state. To achieve this purpose, 20 blood samples were obtained from the control individuals and 20 from the patients with CKD, which were deposited in sterile test tubes, without anticoagulants, were centrifuged and the sera were obtained to determine the sodium and potassium, chloride, calcium, phosphorus and magnesium and the activity of the enzymes alanine aminotransferase (AlAT), aspartate aminotransferase (AsAT), creatine phosphokinase (CFQ) and lactate dehydrogenase (LDH). The t-Student statistical analysis showed significant differences when evaluating the serum concentrations of sodium, potassium, chloride, calcium, phosphorus and magnesium ions and the activities of the enzymes AlAT, CFQ and LDH with increased values. in the group of patients with CKD hemodialysis in all these parameters and non-significant differences in the assessment of the activity of the AsAT enzyme with decreased values in the activity of this enzyme in patients with CKD. All the aforementioned allows us to point out that, in these analyzed nephropathic individuals, the clinical pictures of water and electrolyte retention and the increases in the activities of the AlAT, CFQ and LDH enzymes are the product of the morpho-functional alterations in the filtration membrane. glomerular and renal tubules and inflammatory processes typical of CKD or liver and cardiac pathologies simultaneous to nephropathy that were not detected and were taken into account at the time of the study of each patient.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es una patología que comienza con la pérdida de la función de algunas nefronas y culmina en el momento en el que el resto de las nefronas se hacen incapaces de devolver la homeostasis renal al paciente, disminuyendo significativamente las funciones depurativas, excretoras, reguladoras y endocrino-metabólicas y con ello la incapacidad renal para excretar productos de desecho y mantener los equilibrios hidroelectrolítico y ácido-básico, haciéndose necesario, un tratamiento sustitutivo que contempla la diálisis (hemodiálisis o diálisis peritoneal) o el trasplante renal. Esta patología conduce a la pérdida irreversible del filtrado glomerular de los riñones y aunque en las fases iniciales, los pacientes pueden ser asintomáticos, las complicaciones más comunes son la anemia, disfunción ventricular izquierda, falla cardiaca crónica, hipertensión sistémica e hipertrofia cardiaca (Domarus *et al*. 2016; Moya 2017; Vallianou *et al*. 2019; Dai *et al*. 2021).

El índice de filtración glomerular (IFG) permite clasificar la ERC en cinco estadios: el estadio 1 conceptualizado como lesión renal con presencia de proteinuria o albuminuria como marcadores y con un IFG normal o aumentado (mayor o igual a 90,00 mL/min/1,73 m^2) el estadio 2, descrito como lesión renal con los marcadores usuales y con disminución leve del IFG (60,00 a 89,00 mL/min/1,73m^2), el estadio 3, caracterizado por la disminución moderada del IFG (30,00 a 59,00 mL/min/1,73m^2), el estadio 4, tipificado como la disminución severa del IFG (15,00 a 29,00 mL/in/1,73m^2) y el estadio 5, conocido con enfermedad renal crónica terminal (ERCT), tipifica una condición de fallo renal (IFG menor a 15,00 mL/min/1,73m^2) (Webster *et al*. 2017; Ammirati 2020; Kozdag Gold 2020).

En la progresión de la ERC, están involucrados ciertos factores de riesgo, clasificados en dos ca-

tegorías: no modificables (edad avanzada, raza negra, sexo, historia familiar, enfermedades hereditarias y enfermedades de transmisión genética) y modificables (diabetes mellitus, obesidad, abuso de analgésicos, infecciones por microorganismos β-hemolíticos no resueltos). Esta patología tiene un carácter irreversible y ante la pérdida casi total de la capacidad renal de eliminación de elementos y compuestos en exceso y tóxicos surge como tratamiento la diálisis que permite eliminar productos residuales del metabolismo proteico sin alterar el equilibrio hidroelectrolítico y restablecer el equilibrio acido básico en pacientes con compromiso de la función renal (JOHNSTON *ET AL.* 2020; KATARUKA *ET AL.* 2020).

A medida que la ERC transcurre, los desequilibrios electrolíticos y ácido-básicos se intensifican y constituyen causas importantes de morbilidad y mortalidad en estos pacientes, ya que sus riñones pierden su capacidad para la regulación de los equilibrios electrolítico y ácido-base. El diagnóstico y el tratamiento adecuados disminuyen las complicaciones y potencialmente pueden salvar vidas. Aunque los trastornos electrolíticos y ácido-básicos son causas importantes de morbilidad y mortalidad en pacientes con ERC y con ERCT, pueden tratarse de manera eficaz mediante las medidas preventivas combinadas y terapia farmacológica (DHONDUP & QIAN 2017).

En líneas generales las enzimas urinarias miden el daño del tejido renal y el filtrado glomerular. En tal sentido se debe señalar que las actividades de las enzimas alanina aminotransferasa (AlAT), aspartato aminotransferasa (AsAT) y creatina fosfoquinasa (CFQ) se encuentran aumentadas en algunas patologías renales debido a que éstas se alteran en los tejidos donde han ocurrido lesiones y necrosis tisular, rupturas musculares y lesiones agudas del riñón (PARK *ET AL.* 2020; SHOJI *ET AL.* 2020).

Todo lo referenciado con anterioridad forma parte del basamento teórico para la realización del presente estudio que pretende evaluar las variaciones electrolíticas y de la actividad enzimática en individuos controles y pacientes con ERC hemodializados provenientes de la unidad de diálisis del hospital universitario Antonio Patricio de Alcalá, de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra poblacional

La realización de la presente investigación se basó en el estudio de un grupo de 20 individuos (masculinos y femeninos) con edades comprendidas entre 10 y 70 años, con diagnóstico de ERC, que acudieron a la unidad de diálisis del hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Simultáneamente se estudiaron 20 individuos aparentemente sanos (masculinos y femeninos), designados como grupo control con edades comprendidas entre los 17 y 56 años, sin antecedentes ni sintomatología de ERC o cualquier otra patología.

Normas de bioética

El presente estudio se llevó a cabo tomando en consideración las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki; documentos que han ayudado a delinear los principios más pertinentes a la investigación biomédica en seres humanos. Por otra parte, se respetó el derecho de cada individuo que participó en la investigación a salvaguardar su integridad personal y se tomaron las precauciones para respetar la intimidad e integridad física y mental de cada persona, obteniendo de esta manera su consentimiento por escrito (OFICINA PANAMERICANA DE LA SALUD 1990).

Obtención de las muestras sanguíneas

A cada individuo que participó en esta investigación se le extrajeron 5,00 ml de sangre y se colocaron en tubos de ensayo estériles sin anticoagulante, se esperó un tiempo aproximado de 10 minutos para la retracción del coágulo sanguíneo, posteriormente se centrifugaron las muestras a 3500 rpm y se obtuvieron los respectivos sueros, donde se realizaron las determinaciones de las concentraciones de los parámetros electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio y las actividades de las enzimas AlAT, AsAT, CFQ y lactato deshidrogenasa (LDH).

Técnicas empleadas

Cuantificación de las concentraciones séricas de los iones sodio y potasio

Las concentraciones de estos dos iones se cuantificaron por el método de emisión atómica, el cual consiste en que los átomos de los iones sodio y potasio son llevados a un estado electrónico excitado, por medio de las colisiones térmicas con los componentes de los gases generados por la energía calórica aplicada, y al regresar a su estado electrónico inicial, emiten radiaciones características de cada elemento. De la emisión resultante se aíslan las características espectrales de sodio y potasio y luego el espectro es detectado en un fotodetector, cuya señal de salida se amplifica y se mide en un registrador (Belmar y Rey de Viñas 1971). Valores de referencia (Sodio): (135,00 – 145,00) mmol/L; (Potasio): (3,50 – 5,30) mmol/L (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de cloruro

Esta valoración se realizó por titulación mercurimétrica, la cual consiste en que el cloruro presente en la muestra reacciona con el nitrato de mercurio, en presencia del indicador difenilcarbazona, formando cloruro mercúrico, compuesto soluble pero no ionizado. Cuando todo el cloruro ha reaccionado con el ion mercurio, éste se une al indicador originando el complejo difenilcarbazona mercúrica, compuesto de color violeta. Esta reacción se lleva a cabo en medio ácido. Valores de referencia: (98,00 – 106,00) mmol/L (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de calcio

La metodología empleada para la determinación del ion calcio fue la de la O-cresolftaleina-complexona, sin desproteinización. El fundamento de este método consiste en que el calcio forma un complejo violeta con O-cresolftaleina-complexona, en medio alcalino, que se puede medir espectrofotométricamente a una longitud de onda de 560 nm. Valores de referencia: (8,50 – 10,20) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de fósforo

Este ion se determinó por metodología espectrofotométrica en la cual el fósforo inorgánico reacciona con el compuesto molibdato de amonio, en un medio ácido, para formar un complejo de fosfomolibdato que se mide a una longitud de onda de 340 nm, su intensidad es directamente proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra. Valores de referencia: (2,50 – 4,80) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la concentración sérica de magnesio

Los iones magnesio fueron cuantificados por su reacción con el magón sulfonado, en medio alcalino, formando un complejo de color rosado cuya intensidad se mide a 505 nm y es proporcional a la concentración de iones magnesio presentes en la muestra. Valores de referencia: (1,30 – 2,50) mg/dL (Henry 2007).

Determinación de la actividad sérica de la enzima alanina aminotransferasa (AlAT)

La determinación de la actividad de la enzima AlAT se cuantificó por el método cinético-ultravioleta. En este proceso, la enzima AlAT cataliza la transferencia del grupo amino del L-alanina al alfa cetoglutarato, resultando la formación de piruvato y L-glutamato. El piruvato reacciona con el dinucleótido de nicotinamida, en presencia de la enzima LDH, generando lactato y dinucleótido de nicotinamida. La disminución de dinucleótido de nicotinamida, medida a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de la enzima AlAT en la muestra. Valores de referencia: Hasta 65,00 U/L (HENRY 2007).

Determinación de la actividad sérica de la enzima aspartato aminotransferasa (AsAT)

La determinación de la actividad de la enzima AsAT se realizó por el método cinético-ultravioleta. En este proceso la enzima AsAT cataliza la transferencia del grupo amino del L-aspartato a alfa cetoglutarato, originando oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato, en presencia de la enzima malato deshidrogenada, oxida el dinucleótido de nicotinamida reducido produciendo malato y dinucleótido de nicotinamida. La cantidad de dinucleótido de nicotinamida obtenido, medida a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de la enzima AsAT presente en la muestra. Valores de referencia: (9,00 – 48,00) U/L (HENRY 2007).

Determinación de la actividad sérica de la enzima creatina fosfoquinasa (CFQ)

La cuantificación de la actividad de este catalizador se realizó por metodología colorimétrica basada en la producción de difosfato de adenosina para posteriormente reaccionar con el fosfoenolpiruvato, en presencia de la enzima piruvato quinasa, para formar piruvato y adenosin trifosfato ATP. El primero reacciona con el dinucleótido de nicotinamida y adenosina y los iones hidrógeno, en presencia de la enzima LDH para producir lactato, dinucleótido de nicotinamida y adenosina reducido. La reducción de la absorbancia, medida a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de la enzima CFQ presente en la muestra. Valores de referencia: Hombres: (38,00 – 174,00) U/L; Mujeres: (26,00 – 140,00) U/L (HENRY 2007).

Determinación de la actividad sérica de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH)

El fundamento de esta prueba se basa en que el compuesto L-lactato es convertido a piruvato por la acción de la enzima LDH, en presencia de dinucleótido de nicotinamida, el cual es reducido a dinucleótido de nicotinamida reducido. El aumento en la concentración de dinucleótido de nicotinamida reducido es proporcional a la actividad de la enzima LDH presente en muestra. Valores de referencia: Adultos (135,00 – 240,00) U/L (HENRY 2007).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en esta investigación cumplieron con los criterios de homogeneidad, (prueba de Levene) y normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov Lilliefors) lo que permitió aplicarles la prueba estadística *t-Student*, con el propósito de establecer las posibles diferencias significativas entre las concentraciones de los electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio y la actividad de las enzimas AlAT, AsAT, CFQ y LDH en pacientes con ERC e individuos controles. La toma de decisiones se realizó a un nivel de confiabilidad del 95% (SOKAL Y ROHLF 1979; BANET Y MORINEAU 1999). Todas estas pruebas estadísticas fueron realizadas empleando el programa estadístico IBM SPSS statistics 20.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **tabla 1** muestra el resumen de la prueba estadística *t-Student* aplicada a los valores promedio de los electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio cuantificados en

muestras sanguíneas de individuos controles y pacientes con ERC provenientes de la unidad de diálisis del hospital universitario Antonio Patricio de Alcalá, Cumaná, estado Sucre. Se observan diferencias significativas al evaluar los electrolitos sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio, en las muestras sanguíneas analizadas, en los dos grupos de individuos antes mencionados con valores promedio aumentados en los iones sodio, potasio, cloruro, calcio, fósforo y magnesio los pacientes con ERC.

Tabla 1. Resumen de la prueba estadística t-Student, aplicado a los valores promedio de los electrolitos sodio (mmol/L), potasio (mmol/L), cloruro (mmol/L), calcio (mg/dL), fósforo (mg/dL) y magnesio (mg/dL), medidos en individuos controles y pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) provenientes de la unidad de Nefrología del servicio autónomo hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, estado Sucre.

Grupos	n	Intervalo	X	DE	*t*
Sodio					
Controles	20	125,00 – 143,00	132,39	4,37	24,82*
ERC	20	129,10 – 143,20	138,12	3,55	
Potasio					
Controles	20	3,20 – 4,70	4,12	0,36	19,97*
ERC	20	3,50 – 6,90	4,80	0,91	
Cloruro					
Controles	20	93,45 – 111,67	101,01	4,49	77,36*
ERC	20	99,00 – 122,50	112,73	5,70	
Calcio					
Controles	20	7,49 – 10,00	8,50	0,48	4,29*
ERC	20	7,30 – 12,00	8,90	1,12	
Fósforo					
Controles	20	2,51 – 4,19	3,28	0,49	10,95*
ERC	20	2,00 – 8,30	4,58	1,96	
Magnesio					
Controles	20	1,78 – 2,10	1,91	0,08	300,15*
ERC	20	2,00 – 4,40	3,45	0,62	

ERC: enfermedad renal crónica; C: controles; n: número de muestras; X media; DE: desviación estándar; *t*: prueba de *t*-Student; *: diferencias significativas ($p<0,05$)

Los incrementos significativos encontrados en las concentraciones sanguíneas promedio del ion sodio hallados en los pacientes con ERC pueden deberse, posiblemente, a: 1.- la ingesta incrementada de sales que pueda estar ocurriendo en estos pacientes nefrópatas, lo que conduce a los aumentos de sodio sérico como los que se hallaron en estos individuos. Además, debe señalarse que el desajuste entre la ingesta y la eliminación de sodio conduce a la sobrecarga de líquidos, la hipertensión y la hipertrofia ventricular izquierda, empeorando así el pronóstico de los pacientes con ERC (Nerbass *et al.* 2018; Borrelli *et al.* 2020). 2.- las altas temperaturas ambientales que se suceden en la ciudad de Cumaná y el estado Sucre, lo que hace a sus habitantes, más propensos a procesos de deshidratación ocasionando decrementos en el volumen extracelular que produce disminución del flujo sanguíneo renal a través de la arteriola aferente, hecho que se capta por el aparato yuxtaglomerular como una disminución del diámetro de la pared arteriolar que conlleva a la secreción de renina, la cual estimula la síntesis de la angiotensina II, que actúa sobre la corteza de la glándula suprarrenal, favoreciendo el aumento de la secreción de la hormona aldosterona, que actúa a nivel de los túbulos renales distales y colectores, aumentando el proceso de reabsorción del ion sodio y por consiguiente sus niveles sanguíneos (Taylor *et al.* 2018). Estos resultados muestran similitudes con el trabajo mostrado por Newberry *et al.* (2018), quienes también encontraron valores promedio aumentados del ion sodio en los pacientes nefrópatas estudiados.

Las concentraciones aumentadas del ion potasio observadas en los pacientes con ERC analizados en esta investigación pueden ser atribuidas a incrementos en los alimentos que ingieren estos pacientes, disminución en los procesos de filtración glomerular que ocasionaría una disminución en la eliminación de los excesos de potasio en estos pacientes e incrementos en los procesos de reabsorción tubular de este catión. Resulta pertinente señalar que la hiperpotasemia es una complicación potencialmente mortal de la ERC, por tal razón los pacientes con ERC requieren evitar los cuadros de hiperpotasemia, para no afrontar los riesgos de la misma. Además, se requiere evitar estados de hiperpotasemia en estos pacientes porque ante esta situación dis-

minuyen los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), que ralentizan la progresión de la ERC y mejoran los resultados cardiovasculares y el funcionamiento neuromuscular (Collins *et al.* 2017; Arnold *et al.* 2019; Palmer 2020).

Los resultados en los que se observan valores promedio incrementados de cloruro en los pacientes con ERC hemodializados, en relación a las concentraciones de este anión encontradas en los individuos controles analizados en este estudio, pueden tener su explicación en las concentraciones de sodio que muestran estos mismos pacientes nefrópatas en los cuales también se encontraron incrementos de sodio en los pacientes con ERC en atención a los individuos controles. Este razonamiento se fundamenta en la atracción electrostática que muestran los iones sodio y cloruro dadas sus cargas positiva y negativa respectivamente y los incrementos de estos dos iones observados en los pacientes nefrópatas analizados en esta investigación. Además, debe señalarse que las altas concentraciones séricas de cloruro y las concentraciones disminuidas de este anión en orina se asocian con un mayor riesgo de progresión de la ERC (Feduchi *et al.* 2015; Joo *et al.* 2021).

Los pacientes con ERC hemodializados que se estudiaron en esta investigación mostraron concentraciones de calcio superiores a los arrojados por los individuos aparentemente sanos. Las posibles explicaciones a estos resultados pueden tener su origen en diversas causas, la primera podría estar vinculada a los desequilibrios electrolíticos que se suceden en estos pacientes y que relacionan a todos los pacientes con ERC con incrementos en los niveles séricos de calcio y fosfato productos de alteraciones en la médula ósea. Otra explicación puede adjudicarse a posibles alteraciones en la glándula paratiroidea ocasionando desequilibrios en los iones calcio y fosfato producto de la resorción continua de estos dos iones a nivel óseo y su posterior transporte a nivel sérico. Seguidamente, la paratohormona coopera con la absorción de calcio a nivel intestinal por la acción mediada por la paratohormona de la concentración de calcio absorbiéndose a nivel de las vellosidades intestinales e incorporándose a la sangre de estos pacientes (Rodríguez-Ortiz & Rodríguez 2020).

El parámetro electrolítico fósforo, medido en pacientes con ERC hemodializados e individuos controles, muestra incrementos significativos en el grupo de pacientes nefrópatas que pueden ser explicadas argumentando que, probablemente, estos pacientes cursen con un aumento en la reabsorción tubular de fósforo sérico. Además, debe mencionarse que el fosfato y los estados de hiperfosfatemia están siendo vinculados con la progresión de la enfermedad renal y los pacientes nefrópatas, frecuentemente, a medida que avanza la enfermedad renal, emplean quelantes de fosfato para tratar la hiperfosfatemia y evitar los riesgos de trastornos minerales y óseos, fracturas, enfermedad cardiovascular, progresión de la enfermedad renal y mortalidad (Imran *et al.* 2017; St. Peter *et al.* 2017; Bellorin-Font *et al.* 2019; Tsuchiya & Akihisa 2021).

Los niveles elevados de magnesio observados en los pacientes con ERC, en relación con las concentraciones de magnesio en los individuos controles, pueden deberse a la disminución de la excreción de magnesio a nivel urinario, que se logra por la inactivación del receptor sensible al calcio por el magnesio con lo que se consigue disminuir la excreción de magnesio en los pacientes con ERC. La modificación del canal TRPM6 (transient receptor potential cation channel, subfamilia M, miembro 6, por sus siglas en inglés) en el túbulo distal también puede influir. Además de la morfología ósea anormal y la calcificación vascular, las anomalías en la homeostasis mineral se asocian con un mayor riesgo cardiovascular, mayor mortalidad y progresión de la ERC (Felsenfeld *et al.* 2015).

El resumen de la prueba estadística *t-Student* aplicada a los valores promedio de la actividad

de las enzimas AlAT, AsAT, CFQ y LDH, valoradas en las muestras sanguíneas de los individuos controles y pacientes con ERC que participaron en este estudio, se muestra en la **tabla 2**. Se observan diferencias significativas al evaluar la actividad de las enzimas AlAT, CFQ y LDH en las muestras sanguíneas analizadas, en los dos grupos de individuos antes mencionados con valores promedio aumentados en la actividad de las enzimas AlAT, CFQ y LDH en los pacientes con ERC y ligeramente disminuidos en los valores de la actividad de la enzima AsAT en los pacientes con ERC.

Tabla 2. Resumen de la prueba estadística t-Student, aplicado a los valores promedio de la actividad de las enzimas alanina aminotransferasa (U/L), aspartato aminotransferasa (U/L), creatina fosfoquinasa (U/L) y lactato deshidrogenasa (U/L) medidos en individuos controles (C) y pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) provenientes de la unidad de Nefrología del servicio autónomo hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" Cumaná, estado Sucre

Grupos	n	Intervalo	X	DE	t
Alamina aminotransferasa					
C	20	10,00 – 27,00	15,40	4,05	8,09*
ERC	20	10,00 – 25,00	16,90	3,93	
Aspartato aminotransferasa					
C	20	12,00 – 26,00	17,55	4,17	1,61ns
ERC	20	8,00 – 22,00	15,65	3,20	
Creatina fosfoquinasa					
C	20	56,00 – 105,00	76,20	16,94	8,10*
ERC	20	79,00 – 336,00	160,90	73,40	
Lactato deshidrogenasa					
C	20	94,00 – 165,00	128,20	19,44	13,18*
ERC	20	101,00 – 232,00	147,25	29,78	

ERC: enfermedad renal crónica; C: controles; n: número de muestras; $\bar{X}$ media; DE: desviación estándar; t: prueba de t-Student; ns: diferencias no significativas ($p>0,05$); *: diferencias significativas ($p<0,05$)

Las posibles explicaciones a los valores promedio aumentados de la actividad de la enzima AlAT en los pacientes con ERC analizados en esta investigación pueden tener su origen en varias causas, una de ellas relacionada, probablemente, con los cuadros de inflamación del tejido renal que presentan estos pacientes, vinculando, de esta forma, a la actividad de la enzima AlAT con la ERC. Además, debe señalarse que otras posibles explicaciones a estos resultados lo representan los incrementos de los niveles séricos de las hormonas cortisol, triyodotironina y tetrayodotirosina que presentan estos pacientes, ya que los glucocorticoides y las hormonas tiroideas incrementan la actividad de la enzima AlAT. (Ochiai *et al*. 2020).

La ausencia de diferencias significativas que se percibe en la evaluación de la actividad de la enzima AsAT valorada en los pacientes con ERC que participaron en esta investigación, puede ser explicada señalando que, probablemente, en estos pacientes, los procesos de disfunción tubular proximal, la lesión tisular renal, los cuadros de inflamación y los procesos obstructivos renales, no alteran la actividad de la enzima AsAT en los pacientes nefrópatas antes mencionados. Además, debe señalarse que la actividad disminuida los de la enzima AsAT se asocia siempre con ERC (Velásquez *et al*. 2008; Ochiai *et al*. 2020).

Una de las posibles explicaciones a los niveles incrementados de los valores promedio de la actividad de la enzima CFQ en los pacientes con ERC hemodializados, lo representa, probablemente, el hecho de que esta enzima incrementa su actividad en tejidos contráctiles y estos pacientes cursan, frecuentemente, con procesos inflamatorios y contracciones de sus riñones, uréteres y vejigas urinarias. Otra posible explicación a estos resultados lo constituye la posible comorbilidad cardíaca, no diagnosticada ni señalada al momento de la toma de muestra para su evaluación como paciente con ERC, que presentan estos pacientes y que se suele demostrar por los incrementos de los parámetros colesterol, triglicéridos y la actividad de la enzima CFQ como los encontrados en la evaluación química de los pacientes analizados en esta investigación (Flahault *et al*. 2016).

Los aumentos significativos de la actividad de la enzima LDH que se encontraron en los pa-

cientes con ERC hemodializados ponen de manifiesto la presencia de procesos inflamatorios y cuadros de obstrucción comunes en los pacientes con ERC, ya que la actividad de la enzima LDH se ha encontrado aumentada en individuos que presentan enfermedades renales y ha servido como marcador enzimático en estas enfermedades (Wei *et al.* 2016).

CONCLUSIONES

En los individuos nefrópatas analizados en este estudio, los cuadros clínicos de retención de agua y electrolitos y los incrementos en la actividad de las enzimas AlAT, CFQ y LDH son producto de las alteraciones morfo-funcionales en la membrana de filtración glomerular y en los túbulos renales y a procesos inflamatorios propios de la ERC y patologías hepáticas y cardiacas simultaneas a la nefropatía que resultan ser muy frecuentes en los individuos con nefropatías.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer al laboratorio clínico de la unidad de diálisis «Dr. José Maza Carvajal» del hospital universitario Antonio Patricio de Alcalá, de la ciudad de Cumaná, estado Sucre por la ayuda prestada en la elaboración de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ammirati A. 2020. Chronic kidney disease. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 13(1): 3-9. doi: 10.1590/1806-9282.66. S1.3. PMID: 31939529.

Arnold R., Pianta T., Pussell, B., Endre Z., Kiernan M. & Krishnan A. 2019. Potassium control in chronic kidney disase: implications for neuromuscular function. *Intern. Med. J.* 49(7): 817-825. doi: 10.1111/imj.14114. PMID: 30230667.

Banet T. y Morineau A. 1999. Aprender de los datos: El análisis de componentes principales. Editorial EUB., Barcelona, España.

Bellorin-Font E., Vasquez-Rios G. & Martin K. 2019. Controversies in the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. *Curr. Osteoporos. Rep.* 17(5): 333-342. doi: 10.1007/s11914-019-00533-x. PMID: 31485996.

Belmar M y Rey de Viñas J. 1971. Temperatura corporal y catecolaminas. *Ann. Real Academia Farmac.* 37 (2): 257-280.

Borrelli S., Provenzano M., Gagliardi I., Michael A., Liberti M., De Nicola L., Conte G., Garofalo C. & Andreucci M. 2020. Sodium intake and chronic kidney disease. *Int. J. Mol. Sci.* 21(13): 4744. doi: 10.3390/ijms21134744. PMID: 32635265; PMCID: PMC7369961.

Collins A., Pitt B., Reaven N., Funk S., McGaughey K., Wilson D. & Bushinsky D. 2017. Association of serum potassium with all-cause mortality in patients with and without heart failure, chronic kidney disease, and/or diabetes. *Am. J. Nephrol.* 46(3): 213-221. doi: 10.1159/000479802. Epub 2017 Sep 2. PMID: 28866674; PMCID: PMC5637309.

Dai D., Alvarez P. & Woods S. 2021. A predictive model for progression of chronic kidney disease to kidney failure using a large administrative claims database. *Clinicoecon Outcomes Res.* 13: 475-486. doi: 10.2147/CEOR.S313857. PMID: 34113139; PMCID: PMC8186939.

Dhondup T. & Qian Q. 2017. Electrolyte and acid-base disorders in chronic kidney disease and end-stage kidney failure. *Blood Purif.* 43(1-3): 179-188.

Domarus A., Farreras G., Valentí P., Rozman C., Cardellach y López F. 2016. Medici-

na interna. 18va Edición. ELSEVIER, Barcelona, España, 2689 p.

Feduchi E., Romero C., Yañez E., Blasco I. y García-Hoz C. 2015. Bioquímica. Conceptos esenciales. 2da Edición. Editorial Médica Panamericana, México.

Felsenfeld A., Levine B. & Rodriguez M. 2015. Pathophysiology of calcium, phosphorus, and magnesium dysregulation in chronic kidney disease. *Semin. Dial*. 28(6): 564-77. doi: 10.1111/sdi.12411. Epub 2015 Aug 25. PMID: 26303319.

Flahault A., Metzger M., Chassé J., Haymann J., Boffa J., Flamant M., Vrtovsnik F., Houillier P., Stengel B., Thervet E. & Pallet H. 2016. Nephrotest stuy group. Low serum creatine kinase level predicts mortality in patients with a chronic kidney disease. *PLoS One*. 11(6): e0156433. doi: 10.1371/journal.pone.0156433. PMID: 27248151; PMCID: PMC4889148.

Henry J. 2007. El laboratorio en el diagnóstico clínico. Marbaán Librod, S.L., Madrid, España.

Imran K., Zafar M., Ozair U., Khan S. & Rizvi S. 2017. Metabolic risk factors in pediatric stone formers: a report from an emerging economy. *Urolithiasis*. 45(4): 379-386.

Johnston M. Patel J. & Byrne C. 2020. Causes of mortality in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcohol related fatty liver disease (AFLD). *Curr. Pharm. Des*. 26(10): 1079-1092. doi:10.2174/1381612826666200128094231. PMID: 32003662.

Joo Y., Kim J., Park C., Yun H., Park J., Chang T., Yoo T., Sung S., Lee J., Oh K., Kim S., Kang S., Choi K., Ahn C. & Han S. 2021. Urinary chloride concentration and progression of chronic kidney disease: results from the Korean cohort study for outcomes in patients with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant*. 36(4): 673-680. doi: 10.1093/ndt/gfz247. PMID: 31848615.

Kataruka M., Gupta S., Ramchandran R., Singh M., Dhiman R. & Lal Gupta, K. 2020. Incidence and Risk Factors for Hepatitis C Virus and Hepatitis B Virus Seroconversion in End-Stage Renal Failure Patients on Maintenance Hemodialysis. *J. Clin. Exp. Hepatol*. 10(4): 316-321. doi: 10.1016/j.jceh.2019.11.002. Epub 2019 Nov 27. PMID: 32655234; PMCID: PMC7335726.

Kozdag Gold G. 2020. Global burden of chronic kidney disease and decreased kidney function in Turkish heart failure patients. *Turk. Kardiyol. Dern. Ars*. 48(5): 451-453. English. doi: 10.5543/tkda.2020.80303. PMID: 32633268.

Moya M. 2017. Estudio del estado emocional de los pacientes en hemodiálisis. *Rev. Enfer. Nefrol*. 20(1): 48-56.

Nerbass F., Calice-Silva V. & Pecoits-Filho R. 2018. Sodium intake and blood pressure in patients with chronic kidney disease: A salty relationship. *Blood Purif*. 45(1-3): 166-172. doi: 10.1159/000485154. Epub 2018 Jan 26. PMID: 29478050.

Newberry S., Chung M., Anderson C., Chen C., Fu Z., Tang A., Zhao N., Booth M., Marks J., Hollands S., Motala A., Larkin J., Shanman R. & Hempel S. 2018. Sodium and potassium intake: Effects on chronic disease outcomes and risks [internet]. Rockville (MD): Agency for healthcare. Research and Quality (US); 2018 Jun. Report No.: 18-EHC009-EF. PMID: 30125063.

Ochiai H., Shirasawa T., Yoshimoto T., Nagahama S., Watanabe A., Sakamoto K. & Kokaze, A. 2020. Elevated alanine aminotransferase and low aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio are associated with chronic kidney disease among middle-aged

women: a cross-sectional study. *BMC Nephrol.* 21(1): 471. doi: 10.1186/s12882-020-02144-6. PMID: 33172399; PMCID: PMC7653768.

Oficina Panamericana de la Salud. 1990. Bioética. Boletín de la Oficina Panamericana de la Salud. Vol. 108.

Palmer B. 2020. Potassium binders for hyperkalemia in chronic kidney disease-diet, renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor therapy, and hemodialysis. *Mayo Clin. Proc.* 95(2): 339-354. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.05.019. Epub 2019 Oct 23. PMID: 31668450.

Park C., Kitazawa T., Futamura A., Hirana H., Shoji M., Osanai M. & Yokozawa T. 2020. Therapeutic potential of chinese prescription kangen-karyu for patient with lifestyle-induced metabolic syndrome. *Drug Discov. Ther.* 14(5): 252-255. doi: 10.5582/ddt.2020.03077. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33116040.

Rodríguez-Ortiz M. & Rodríguez M. 2020. Recent advances in understanding and managing secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. F1000Res. 9: F1000 Faculty Rev-1077.doi:10.12688/f1000research.22636.1.PMID: 32913635; PMCID: PMC7463297.

Shoji M., Osanai M. & Yokozawa T. 2020. Therapeutic potential of chinese prescription kangen-karyu for patient with lifestyle-induced metabolic syndrome. *Drug Discov. Ther.* 14(5): 252-255. doi: 10.5582/ddt.2020.03077. Epub 2020 Oct 29. PMID: 33116040.

Sokal R. y Rohlf F. 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ed. H. Blume Ediciones, Madrid, España.

St. Peter W., Wazny L., Weinhandl E., Cardone K. & Hudson J. 2017. A Review of phosphate binders in chronic kidney disease: Incremental progress or just higher costs? *Drugs.* 77(11): 1155-1186. doi: 10.1007/s40265-017-0758-5. Erratum in: Drugs. 2017 Aug 7: Peter, Wendy L St [corrected to St. Peter, Wendy L]. PMID: 28584909.

Taylor A., Rankin A., McQuarrie E., Freel E., Homer N., Andrew R., Jardine A. & Mark P. 2018. Non-uniform relationship between salt status and aldosterone activity in patients with chronic kidney disease. *Clin. Sci. (Lond).* 132(2): 285-294. doi: 10.1042/CS20171603. PMID: 29321218.

Tsuchiya K. & Akihisa T. 2021. The importance of phosphate control in chronic kidney disease. *Nutrients.* 13(5): 1670. doi: 10.3390/nu13051670. PMID: 34069053; PMCID: PMC8156430.

Vallianou N., Mitesh S., Gkogkou A. & Geladari E. 2019. Chronic kidney disease and cardiovascular disease: Is there any relationship? *Curr. Cardiol. Rev.* 15(1): 55-63.doi:10.2174/1573403X14666180711124825. PMID: 29992892; PMCID: PMC6367692.

Velásquez W., Díaz C., Vargas A., Betancourt J., Belmar D., Sosa J., Gómez R. y Acuña, A. 2008. Alteraciones enzimáticas y proteicas en pacientes nefríticos. *Saber.* 20(1): 72-78.

Webster A., Nagler E., Morton R. & Masson P. 2017. Chronic kidney disease. *Lancet.* 389(10075): 1238-1252.

Wei Wu L., Wei Kao T., Ming Lin C., Fang Yang H., Shan Sun Y., Yih Liaw F., Ching Wang C., Chun Peng T. & Liang Chen W. 2016. Examining the association between serum lactic dehydrogenase and all-cause mortality in patients with metabolic syndrome: a retrospective observational study. *BMJ Open.* 1-7.

analytikjena

El caballo de batalla eficaz para su laboratorio

novAA 800 máxima flexibilidad analítica, es el ASS más moderno perfecto para uso rutinario en laboratorios industriales de control de calidad y proveedores de servicios analíticos.

novAA 800

Combina versatilidad, confiabilidad y automatización, por lo que es altamente eficiente y rentable.

Hace que el análisis de rutina AUMENTE LA RENTABILIDAD Y EFICIENCIA EN SU LABORATORIO



- Aplicaciones AAS (tecnología de llama, horno de grafito e hidruro), todo en una plataforma de tamaño reducido.
- Con un software de última generación Aspect Ls Novaa 1.6.0.0
- Análisis eficiente con un alto grado de automatización y accesorios que mejoran el rendimiento.
- Fiable con el último detector de estado sólido SiOSens y una garantía a largo plazo de 10 años para los componentes ópticos.
- Operación más simple con ocho posiciones de lámpara logrando gran flexibilidad.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

El PlasmaQuant 9100 es el ICP-OES con el más bajo consumo de Argón del mundo

ICP-OES PlasmaQuant 9100

La serie **PlasmaQuant 9100 ICP-OES** de AnalytikJena ofrece una multitud de características **innovadoras** para proporcionar una poderosa herramienta **analítica** con el mejor rendimiento posible de ICP-OES y una amplia aplicabilidad desde análisis de rutina hasta tareas analíticas muy complejas.





analytikjena

PlasmaQuant 9100

Máxima fiabilidad: **Poder de resolución único con óptica de alta resolución**
Observación flexible: **Modelos de observación de plasma acial y radial optimizado.**
Mayor productividad: **Extraordinaria robustez del sistema de plasma (antorcha, nebulizador, etc.)**
Funcionalidad conveniente: **Amplia aplicabilidad y rendimiento analítico superior desde ppb`s hasta %**

REPRESENTANTE EXCLUSIVO
DE VENTAS Y SERVICIOS
SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

EVALUACIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA CELULAR EN POLIMORFONUCLEARES PROVENIENTES DEL PRONEFROS DE ALEVINES DE *COLOSSOMA MACROPOMUM* EXPUESTOS A UNA DOSIS SUBLETAL DE CADMIO

(EVALUATION OF CELLULAR INNATE IMMUNITY IN POLYMORPHONUCLEARS FROM THE PRONEPHROS OF *COLOSSOMA MACROPOMUM* FRY EXPOSED TO A SUBLETHAL DOSE OF CADMIUM)

YANET DEL VALLE ANTÓN-MARÍN[1]

[1]Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Postgrado de Biología Aplicada, Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad

E-mail: yanetanton2019@gmail.com

RESUMEN

En los peces, el estrés causado por químicos en el medio ambiente puede afectar el sistema inmune. Se evaluó el efecto de 0,10 mg.L^{-1} de Cd sobre la viabilidad, la actividad fagocítica, índice fagocítico, la adherencia, la quimiotaxis y el estallido respiratorio de polimorfonucleares (PMN) procedentes del pronefros de alevines de *Colossoma macropomum* a diferentes lapsos, con lo cual se pretendió determinar cómo varían dichos parámetros ante la exposición al tóxico. Los organismos fueron divididos en 5 grupos experimentales, 4 grupos expuestos, representando cada uno, un tiempo de exposición (3, 21, 31 y 45 días), y un control. Según el tiempo de exposición, se sacrificaron los peces mediante decapitación, para así obtener el pronefros, y de él, los PMN. La actividad fagocítica (AF), el índice fagocitario (IF), la adherencia y el estallido respiratorio se evaluaron mediante la técnica histoquímica del nitroazul de tetrazolio, mientras que la quimiotaxis, se evaluó por medio de la prueba de siembra en agarosa al 0,50%. Se usó un análisis de Kruskall-Wallis para comparar entre los grupos de peces, tanto control como expuestos, y determinar si existían diferencias entre los parámetros evaluados. Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros evaluados; la AF, el IF y la adherencia mostraron los valores más bajos a los 45 días de exposición, mientras que el estallido respiratorio y la quimiotaxis a los 31 y 21 días, respectivamente. Los resultados indican que el efecto del Cd, a esta dosis, sobre las respuestas evaluadas, es nocivo para los PMN, así mismo, su inmunotóxicidad se evidenció por la disminución de la quimiotaxis y de las respuestas fagocíticas, causando el deterioro de la eficacia de la resistencia inmune, aumentando a su vez la susceptibilidad a las infecciones, evidenciando el efecto inmunotóxico del Cd.

Palabras clave: cadmio, pronefros, fagocitosis, *Colossoma*, inmunidad innata, estallido respiratorio.

ABSTRACT

The effect of 0.10 mg.L^{-1} of Cd on viability, phagocytic activity, phagocytic index, adherence, chemotaxis and the respiratory burst of polymorphonuclear (PMN) from the pronephros of

Recibido: 16/09/2021
Aceptado: 02/12/2021

Colossoma macropomum fry to different lapses are evaluated. With which it was intended to determine how such parameters vary before exposure to toxic. The fishes were divided into 5 experimental groups, 4 groups exposed, each representing an exposure time (3, 21, 31 and 45 days), and one control. According to the exposure time, the fish were sacrificed by decapitation, to get the pronefros, and from it, the PMN. Fagocytic activity (AF), the phagocytic index (IF), adhesion and respiratory burst were evaluated by the histochemical technique of nitroblue tetrazolium, while chemotaxis was evaluated by means of the test in agarose at 0.50 %. A Kruskall-Wallis analysis was used to compare between groups of fish, both control and exposed, and determine if there were differences between the parameters evaluated. Significant differences were observed in all evaluated parameters; The AF, the IF and the adherence showed the lowest values at 45 days of exposure, while the respiratory burst and chemotaxis at 31 and 21 days, respectively. The results indicate that the effect of the Cd, at this dose, on the responses evaluated, is harmful to the PMN, as well, it's immunotoxicability was evidenced by the reduction of chemotaxis and phagocytic responses, causing the deterioration of the effectiveness of immune resistance, in turn increasing susceptibility to infections, evidencing the immunotoxic effect of the Cd.

Key words: cadmium, pronephros, phagocytosis, *Colossoma*, innate immunity, respiratory burst.

INTRODUCCIÓN

En los peces, como en todos los animales poiquilotermos, la inmunidad innata es particularmente importante (Fernández *et al*. 2002; Siwicki *et al*. 2010; Paludan *et al*. 2021). En ellos, el pronefros es el principal órgano implicado en la respuesta inmune, el mismo es el encargado de producir las células que van a modular y ejecutar una respuesta inmune satisfactoria, tanto de la respuesta adaptativa como de la innata. La respuesta inmune innata comprende una serie de mecanismos de defensa (fagocitosis, quimiotaxis y muerte bacterial, entre otros) que en estos organismos constituyen su línea de defensa primaria y primordial (Rauta 2012; Geven & Klaren 2017), siendo la fagocitosis un proceso esencial en la defensa de estos organismos, (Tort *et al*. 2005; Esteban *et al*. 2013) radicando allí su importancia como principal mecanismo de protección de los peces.

Debido a las características del sistema inmune, es posible predecir, dependiendo de la vía de exposición al tóxico, la sensibilidad de los mecanismos inmunológicos expresados por un organismo ante un contaminante en particular, ya que este sistema incluye respuestas celulares y bioquímicas que pueden ser medidas en el laboratorio; como ejemplo de estas respuestas ante xenobióticos se pueden mencionar el recuento diferencial de leucocitos y el monitoreo de la actividad fagocítica de los glóbulos blancos (Kreutz *et al*. 2011).

Uno de los parámetros usados, es la evaluación de la fagocitosis, ésta señala que los leucocitos tienen un alto potencial de participación en la respuesta inmune o de fagocitar un antígeno determinado (Abreu *et al*. 2009). Estudios realizados en peces capturados en cuerpos de agua contaminados comparados con peces de la misma especie que habitaban aguas libres de contaminantes, han evidenciado un comportamiento de los macrófagos diferente (Romano 1999). La fagocitosis es un mecanismo primordial en la inmunidad innata. El proceso fagocítico es un procedimiento complejo que incluye varias etapas secuenciales y que comprenden varios pasos: la quimiotaxis, la adhesión, la endocitosis y los cambios físicos y bioquímicos intracelulares que capacitan a los fagocitos para endocitar, matar y digerir a los microorganismos (Rojas-Espinosa y Arce-Paredes 2004).

Estudios realizados en peces, muestran que la fagocitosis es sensible a los tóxicos, al respecto Zelikoff *et al*. (2002) observaron una reducción significativa de la fagocitosis y de la producción de oxi-radicales en ejemplares de *Micropterus dolomieu* colectados en una zona contaminada por policlorados bifenilos en comparación con organismos muestreados en sitios de referencia. Por otro lado, los ftalatos o ésteres de ácido ftálico, han demostrado impactar de forma negativa sobre las células fagocíticas de *Cyprinus carpio* (Watanuki *et al*. 2003). De igual modo, la quimiotaxis, otro parámetro del proceso de fagocitosis, al parecer aumenta durante la exposición a metales. Robohom (1986), en *Morone saxatilis*, halló que la migración de macrófagos peritoneales aumenta durante la exposición al cadmio (Cd). De igual forma Rymuszka & Sieros^{3}awska (2013), hallaron, en leucocitos de *Cyprinus carpio*, tanto de pronefros como de sangre periférica expuestos a una cianotoxina, que la actividad fagocítica era inhibida, mientras que las especies reactivas de oxígeno aumentaban con relación a los controles.

El Cd es un importante xenobiótico, tóxico, no degradable que puede incorporarse en los peces a través de dos rutas principales: por ingestión e introducción en órganos como hígado, riñón y tracto gastrointestinal. Este metal causa una diversidad de efectos tóxicos en peces teleósteos, tales como fracturas y deformidad de los huesos, lesiones en la piel, disminución del consumo de oxígeno por los tejidos branquiales, alteraciones patológicas en el tejido renal, trastornos hematológicos y metabólicos, además de supresión del sistema inmune, entre otros. Su toxicidad se incrementa debido a la propiedad de bioacumularse ocasionando el efecto de biomagnificación en los niveles tróficos siguientes (Kamunde & MacPhail 2011; Moharran *et al*. 2011; Kondera & Witeska 2013); al respecto se han demostrado los efectos tóxicos de este metal en el órgano hematopoyético del pez *Colossoma macropomum*, tanto en la estructura, morfología y funcionabilidad del órgano, como en las propias células que lo conforman, advirtiéndose, sobre todo a nivel ultraestructural, el daño producido por el metal a concentraciones subletales (Antón-Marín *et al*. 2015).

El estrés causado por agentes fisicoquímicos en el medio ambiente puede afectar el sistema inmune en los peces, dependiendo del tipo de tóxico, dosis, tiempo de exposición, y condiciones fisicoquímicas del agua, entre otros factores (Tort *et al*. 2005). En estos organismos un factor estresante puede provocar alteraciones en los parámetros hemáticos, metabólicos, inmunitarios, equilibrio endocrino, disfunción en la síntesis de diversas enzimas y deficiencias reproductivas (Milla *et al*. 2011; Rudneva *et al*. 2012). Esta serie de alteraciones disminuyen la resistencia inmune de los peces aumentando la susceptibilidad a las infecciones (Radhakrishnan 2010).

En este trabajo se evaluó el efecto de una dosis subletal (0,10 mg.L^{-1}) de Cd sobre algunos parámetros inmunológicos: viabilidad, fagocitosis (actividad fagocítica, índice fagocítico), así como sobre la adherencia, la quimiotaxis y el estallido respiratorio de células polimorfonucleares (PMN) procedentes del pronefros de alevines de *C. macropomum* a diferentes lapsos, esto, como una medida del funcionamiento del sistema inmune innato celular, con lo cual se pretendió determinar cómo varían dichos parámetros ante la exposición al tóxico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Alevines de *C. macropomum*, donados por la empresa Piscicultura ALMA, C.A (ALMACA) con las siguientes medidas iniciales: longitudes de 3,02 ± 1,20 cm y masa 3,10 ± 1,38 g, fueron trasladados desde la piscicultura antes señalada, en bolsas plásticas selladas conteniendo agua y oxígeno, hasta el Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad, del Postgrado en Biología Aplicada de la Universidad de Oriente (núcleo de Sucre). Una vez en el laboratorio, fueron co-

locados inmediatamente en acuarios de vidrio (medidas: 60,00 x 30,00 x 40,00 cm y con capacidad útil de 60,00 L de agua) que contenían agua previamente aireada y sin cloro. Al cabo de 30 min. los peces fueron sacados uno por uno de las bolsas plásticas con una malla para peces, e introducidos directamente en el agua de los acuarios para así iniciar el periodo de aclimatación, por 15 días, los organismos fueron alimentados *ad libitum* todas las mañanas, antes del recambio de agua, con alimento comercial en hojuelas para peces tropicales (marca Kantal), así mismo se les realizó recambio del 80,00% del agua diariamente, manteniéndolos con continua aireación, los acuarios fueron cubiertos con bolsas plásticas negras para disminuir la cantidad de luz artificial y minimizar el estrés. Los parámetros físico-químicos se mantuvieron constantes durante todo el ensayo (pH: 7,00 ± 0,30; temperatura: 24,00 ± 1,00 ºC; O_2: 3,90 ± 0,10 mg.L^{-1}; dureza total: 106,00 mg.L^{-1}), siendo estos monitoreados diariamente. Al final de este periodo, se procedió al montaje del bioensayo y a la posterior obtención de las muestras. Tomando como base la concentración letal media (LC_{50}) de Cd determinado para esta especie (Blanco 2004) la cual fue de 38,47 mgL^{-1}, se empleó una dosis subletal de Cd de 0,10 mgL tomada a partir de una concentración madre de 1000,00 mg.L^{-1}.

Luego de culminado el periodo de aclimatación, se procedió a realizar el bioensayo, para esto se colocaron, 48 horas antes del inicio de este, 150 peces de tamaños similares (longitud total: 4,48 ± 1,80 cm; masa: 4,10 ± 0,20 g) en cada uno de los acuarios exactamente iguales a los usados en el periodo de aclimatación, preparados para tal fin. Los organismos, a razón de 10 individuos por acuario, fueron divididos en 5 grupos experimentales: un grupo control y 4 grupos expuestos y, cada uno con 2 réplicas, lo que equivalió a tres acuarios por cada grupo (15 acuarios en total). A cada grupo de ejemplares expuestos se les colocó el tóxico (0,10 mg.L^{-1} de Cd) en el agua de los acuarios. Cada uno de estos grupos experimentales representaba un tiempo de exposición los cuales fueron: 3, 21, 31 y 45 días, más el grupo control (sin exposición al tóxico), durante todo el bioensayo se mantuvieron las mismas condiciones físicas y químicas del agua para todos los acuarios, siendo utilizado un sistema de ensayo semi estático con recambio diario del 80,00% del agua, manteniendo la concentración del metal en el agua constante, de acuerdo con la concentración de interés (Usepa 1996). Luego de la culminación del periodo de exposición al metal, de acuerdo con cada lapso, se procedió a tomar las muestras a los 3, 21, 31 y 45 días, para la determinación de los parámetros a estudiar.

Para la obtención de las muestras (células PMN), los peces fueron colocados en una cubeta con agua fría (5,00 °C) hasta que se adormecieron, para de esta forma pesarlos, medirles la longitud estándar y proceder a extraer el pronefros. Cada uno de los peces (con medidas biométricas promedio: 5,20± 1,30 cm y masa: 6,01± 1,10 g) según su condición (expuestos y controles), fueron rápidamente decapitados mediante un corte en la zona posterior a la región opercular, luego se procedió a realizar una incisión desde la región dorsal hasta la zona del pedúnculo caudal para abrir al animal y exponer la cavidad abdominal para extirpar el pronefros, el cual se extrajo y fue colocado en solución de Hank (HBSS) y mantenido en frio (4,00 °C) hasta su procesamiento (no mayor a 2 horas) (Eggleton *et al.* 1989; Hart *et al.* 1998).

Los PMN del pronefros se obtuvieron por modificación de la técnica de Hart *et al.* (1998) y Eggleton *et al.* (1989). Luego de removidos, pesados y lavados con solución salina fisiológica estéril y HBSS, los pronefros fueron pasados a través de una malla de nylon de abertura 100 ìm, sobre una placa de Petri estéril mantenida en hielo, para homogeneizar luego en 1,00 mL de HBSS, suplementado con 1,00% de L-glutamina 4,00 mM (1,00%), penicilina (1000000,00 UI.L^{-1}), estreptomicina 0,10 mg/mL y heparina 0,10%. La suspensión celular se centrifugó a 5000 rpm

por 10 min., el precipitado se resuspendió en 0,75 mL de HBSS suplementado y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min, el precipitado se colocó nuevamente en 0,75 mL de HBSS y se centrifugó a 3000 rpm por 5 min, el sedimento se resuspendió en 2000,00 µL de HBSS con suero fetal y se conservó en tubos Eppendorf a 4,00 °C hasta la realización de las pruebas inmunológicas.

Viabilidad celular de los leucocitos polimorfonucleares del pronefros

La viabilidad celular se realizó mediante la técnica de exclusión del azul de tripano al 0,40% (FAIRHURST *ET AL*. 2007). Este método se basa en que las células viables no captan ciertos colorantes, no permiten el paso del colorante a su interior, mientras que las células no viables, si lo permiten, lo cual es una característica que ayuda a diferenciar unas células de otras. Aquí los PMN se colorearon con una solución de azul de tripano (Sigma-Aldrich, INC. St. Louis, USA) al 0,40% en HBSS. La solución preparada se conservó en frasco ámbar y bajo refrigeración por un período no mayor a 15 días. En el procedimiento, se mezclaron partes iguales de azul de tripano (0,40%) y de la suspensión de PMN preparada; se agitó en un vortex durante 20 segundos, procediendo a realizar el contaje de las células en una cámara de Neubauer, contando en los cuatro cuadrantes secundarios periféricos en un microscopio marca Olympus, modelo CX41RF.

Se obtuvo el porcentaje de viabilidad mediante la cuantificación de 100 células; de esas 100 células se determinaron cuántas estaban vivas. Los resultados obtenidos se expresaron en porcentajes de células vivas. Luego de este ensayo se ajustó la suspensión de PMN a 10,00 x 10^6 cels.mL^{-1} en HBSS, para luego poder utilizarla en posteriores determinaciones.

Evaluación de la actividad fagocítica

Para la evaluación de la actividad fagocítica (AF) de los PMN del pronefros se llevó a cabo la técnica histoquímica de nitroazul de tetrazolio (NBT por sus siglas en inglés) de ROJAS-ESPINOSA Y ARCE-PAREDES (2004) modificada para células del pronefros. Esta tiene la ventaja que a la vez que mide la actividad fagocítica mide la adherencia y el estallido respiratorio. En la prueba del NBT, los neutrófilos se incuban con el colorante oxidado, se estimulan con partículas ingeribles y se examinan al microscopio para buscar la presencia o ausencia de formazan azul dentro de las células.

Reducción del nitroazul de tetrazolio (Prueba histoquímica)

Por cada organismo se prepararon 2 portaobjetos (de vidrio) lavados y desengrasados. Se marcaron 3 círculos equidistantes, de aproximadamente 1,00 cm de diámetro, con lápiz graso en cada portaobjetos. Se depositó una gota de suspensión de células (PMN) en el centro de cada círculo dibujado en el portaobjetos. Se colocó cada portaobjetos dentro de una cámara húmeda (paso crítico). Se incubaron a 37,00ºC por 30 min. Se recuperaron los portaobjetos y se lavaron con PBS pH 7,20, se secó el líquido alrededor de los círculos con papel absorbente, evitando que las preparaciones celulares se secaran. Se adicionó, al primer círculo, aproximadamente 30,00-50,00 ìL de solución de NBT (Sigma, St Louis, USA) al 0,10%; al segundo círculo 30,00-50,00 ìL de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) opsonizadas suspendidas en NBT al 0,10% en NaCl 0,15 M y al tercer círculo, 30,00-50,00 ìL de levaduras no opsonizadas suspendidas en NBT al 0,10%. Se incubaron las preparaciones a 37,00ºC durante 30 min., se recuperaron los portaobjetos y luego fueron lavados con PBS. Se secó el exceso de líquido alrededor de los círculos y se cubrieron las preparaciones con safranina al 0,50% en agua. Se incubaron a temperatura ambiente durante 10 min. Al cumplirse el tiempo de incubación los portaobjetos fueron lavados con agua para eliminar el exceso de colorante, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron

secar al aire y se montaron para ser observados al microscopio con 100X, visualizándose los fenómenos de ingestión y reducción del NBT.

Para la determinación del índice fagocitario o de fagocitosis (IF), y la actividad fagocítica (AF), se cuantificó el grado de endocitosis en las preparaciones: se contó un mínimo de 100 células y se estableció el porcentaje de células fagocitantes (aquellas que tenían por lo menos una levadura en su interior), de estas células se estableció el porcentaje de las células que habían ingerido 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 ó más de10 levaduras, además, se estableció el porcentaje de las células que habían reducido el colorante (la reducción en una sola vacuola fue suficiente para calificar la reducción como positiva= NBT positivo).

La AF se obtuvo mediante la fórmula siguiente:

$$AF = \frac{N^o \text{ células fagocitantes}}{N^o \text{ total de fagocitos contados}} \times 100$$

De igual manera se obtuvo el IF, para lo cual se utilizó la fórmula:

$$IF = \frac{N^o \text{ células de levaduras ingeridas}}{N^o \text{ total de células con levaduras ingeridas}}$$

Al mismo tiempo esta prueba permitió evaluar el estallido respiratorio de los PMN basado en la producción intracelular del anión superóxido (O_2^-) mediante la reducción del NBT.

Activación de la adherencia de las células a superficies

La capacidad de adherencia de las células a las superficies se contó en las mismas láminas utilizadas para la determinación de la fagocitosis. Observándose a 40X los neutrófilos activados. Se contaron 100 células y se obtuvo el porcentaje de células adherentes.

Determinación indirecta del estallido respiratorio

El estallido respiratorio basado en la producción de anión superóxido (O_2^-) fue determinado por la misma técnica anterior. Cuando la solución de NBT es incubada con las células a evaluar, este es reducido por el anión superóxido a formazan, una sustancia de color azul-negro que se deposita como partículas insolubles dentro de las células, este ensayo es una prueba indirecta la cual es claramente visible al microscopio (YILDIRIM *ET AL.* 2003).

Quimiotaxis

Se empleó la prueba de quimiotaxis descrita por VARGAS (2008), modificada para células del pronefros. Para evaluar la quimiotaxis se siguió el siguiente protocolo: en láminas portaobjetos se añadieron 2,00 mL de agarosa al 0,50% y se dejaron reposar por 5 min. hasta solidificar; se hicieron tres orificios en la agarosa con la punta de una pipeta calibrada a 0,30 cm de diámetro, colocándose en cada uno de los orificios las muestras de la siguiente forma: a.- En el orificio central se colocaron 20,00 µL de la suspensión de células fagocíticas coloreadas con safranina al 0,50%. b.- En el orificio derecho se colocaron 20,00 µL de levaduras opsonizadas. c.- En el orificio izquierdo se colocaron 20,00 µL del antibiótico estreptomicina (sustancia control no quimiotáctica). Una vez colocadas las muestras en las láminas portaobjetos, se llevaron a cámara húmeda por 12 horas, al término del cual se midió el recorrido de los fagocitos desde el pozo central hasta el borde de ataque de las células. Los resultados fueron expresados en cm recorridos por los fagocitos.

Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de Kruskall-Wallis para realizar una comparación de los parámetros entre los grupos de peces (control y expuestos), y determinar si existían diferencias significativas

entre los parámetros evaluados. La toma de decisiones se realizó a un nivel de significancia del 95%. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico Statgraphic versión 5.1 en ambiente Windows (SOKAL Y ROHLF 2009).

RESULTADOS

Se observaron diferencias significativas en las respuestas de quimiotaxis y de adherencia de los leucocitos PMN provenientes de los diferentes grupos evaluados (K-W= 27,53; $P<0,05$; K-W= 46,41; $P<0,05$ respectivamente), los valores promedio máximos lo presentaron los grupos controles (3,20 ± 0,50 cm para la quimiotaxis y 31,08 ± 1,29% para la adherencia); mientras que los valores mínimos de quimiotaxis se obtuvieron en el grupo expuesto durante 21D (2,10 ± 0,14 cm) y para la adherencia (15,41 ± 0,93%) para el grupo de 45D (**Fig.1, Fig. 2**).

El análisis estadístico determinó que hubo diferencias significativas en la actividad fagocítica de los PMN de los diferentes grupos de peces expuestos a Cd (K-W=40,15; $P<0,05$); los mayores valores se observaron en el grupo control (73,07 ± 4,51%) y el menor valor promedio se observó en el grupo expuesto durante 45D (21,30 ± 3,40%) (**Fig. 3**); igualmente, se evidenciaron diferencias significativas para el índice fagocitario (K-W= 32,75; $P<0,05$) (**Fig. 4**), los mayores valores se observaron para el grupo control (2,83 ± 0,29) y el menor valor para el grupo expuesto durante 45D (1,85 ± 0,22). Para el estallido respiratorio (**Fig. 5**) se observaron diferencias significativas entre los grupos (K-W= 31,50; $P<0,05$), el valor más alto se observó para el grupo control (95,00 ±2,40%) mientras que el menor se registró para el grupo de 31D (61,00 ± 1,80%).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican que el efecto del Cd sobre las respuestas celulares evaluadas relacionadas con la capacidad inmunológica de las células del pronefros responde al tiempo de exposición al metal más que por la dosis empleada.

La disminución en la respuesta quimiotáctica de las células del pronefros (**Fig. 1**) sugiere que el Cd afecta la funcionalidad de estas células actuando sobre el citoesqueleto. Se ha reportado que metales como el Cd afectan la respuesta fagocítica de PMN sanguíneos en peces expuestos a este metal (RADHAKRISHNAN 2010). Sin embargo, en esta investigación se demuestra que el Cd afecta a los PMN mucho antes de que sean liberados a la sangre periférica, es decir, son perjudicados directamente en el órgano productor de los mismos (pronefros), y que, adicionalmente el efecto inmunosupresor del metal va a depender del tiempo de exposición al mismo, todo esto quizás relacionado con la capacidad que tiene este órgano de bioconcentrar el Cd, previamente. MARCANO (2011), también en *C. macropomum*, halló que los niveles de Cd en pronefros aumentaron significativamente, así mismo determinó que el metal tiende a acumularse en mayor concentración en el riñón en proporción con el tiempo de exposición.). Por su parte, KONDERA *ET AL.* (2014), hallaron en *Cyprinus carpio* que el Cd tiene muy alta afinidad por el pronefros.

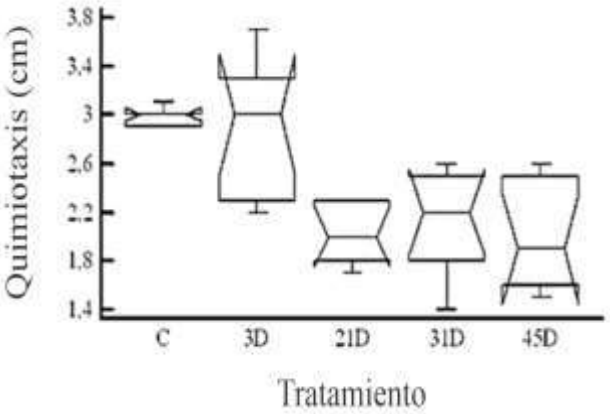


Fig. 1. Quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares provenientes del pronefros de alevines de Colossoma macropomum expuesto durante diferentes lapsos a 0,1 mg/L de Cd. C= control, 3D= 3 días, 21D= 21 días, 31D= 31 días y 45D= 45 días.

Todo lo anterior permite señalar que el pronefros es un órgano diana del Cd, por lo tanto, es lógico pensar que sus efectos nocivos se vean reflejados tanto en la citoarquitectura del órgano, como en la de las células que en él se producen (ANTÓN-MARÍN *ET AL*. 2015), así como en la función de las células PMN originadas en este órgano, tal como se observa en esta investigación, de igual manera, una disminución de la quimiotaxis también fue observada por VARGAS (2008) en granulocitos provenientes del riñón de *C. macropomum* expuesto a Cd y cobre, separadamente, mostrando el efecto que tienen estos dos metales pesados y en especial el Cd sobre la capacidad inmunológica de las células estudiadas.

Estudios realizados por XU *ET AL*. (2009), mostraron los efectos del Cd en las células del ápice radicular de *Allium sativum*, demostrando que el Cd afectó los mecanismos de control de la organización de los microtúbulos del citoesqueleto, así como a los procesos de ensamblaje/desensamblaje de la tubulina, concluyendo que los microtúbulos del citoesqueleto son sitios diana de la toxicidad de Cd en células de la punta de ápice radicular. Este mecanismo propuesto por XU *ET AL*. (2009) pudiese explicar los resultados encontrados en este estudio, ya que tanto la quimiotaxis, la adherencia (**Fig. 2**), el IF (**Fig. 3**), así como la AF (**Fig. 4**), están alteradas, debido a que estos parámetros son mecanismos que dependen de la exacta conformación del citoesqueleto, la cual a su vez depende, en gran medida, de iones Ca^{++}, cuyo metabolismo se ve afectado por el Cd (TVERMOES *ET AL*. 2011). En base a lo antes expuesto se debe señalar que, probablemente, el Cd, a través de su acción sobre el Ca^{++}, actúe sobre las células del pronefros afectando los parámetros examinados.

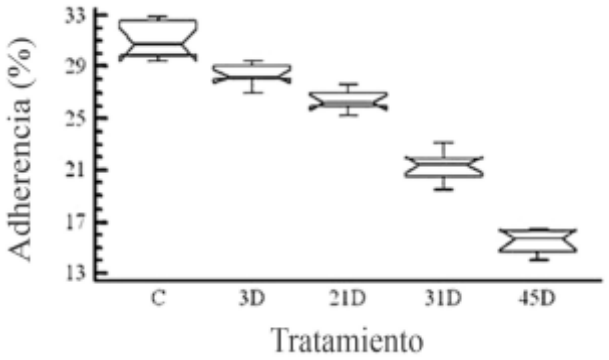


Fig. 2. Adherencia de leucocitos polimorfonucleares provenientes del pronefros de alevines de C. macropomum expuesto durante diferentes lapsos a 0,1 mg/L de Cd. C= control, 3D= 3 días, 21D= 21 días, 31D= 31 días y 45D= 45 días.

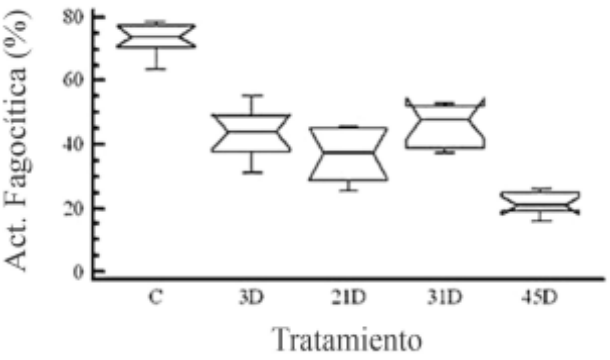


Fig. 3. Actividad fagocítica de leucocitos polimorfonucleares provenientes del pronefros de alevines de Colossoma macropomum expuesto durante diferentes lapsos a 0, 1 mg/L de Cd. C= control, 3D= 3 días, 21D= 21 días, 31D= 31 días y 45D= 45 días.

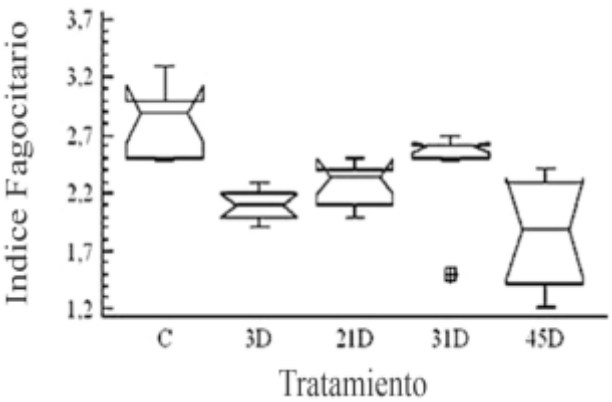


Fig. 4. Índice fagocitario de leucocitos polimorfonucleares provenientes del pronefros de alevines de Colossoma macropomum expuesto durante diferentes lapsos a 0, 1 mg/L de Cd. C= control, 3D= 3 días, 21D= 21 días, 31D= 31 días y 45D= 45 días

Así mismo, la disminución de la respuesta fagocítica en la modalidad evaluada [(estallido respiratorio (**Fig. 5**)], pudiera también sugerir una respuesta tóxica no específica ante el Cd relacionada con sus propiedades fisicoquímicas, entre estas la afinidad que tiene el Cd por los grupos –SH, –OH, carboxilo, fosfatil, cisteinil e histidil, los cuales son parte fundamental de las biomoléculas y por su acción competitiva con otros elementos funcionalmente esenciales, tales como el zinc, el hierro y el Ca^{++}, provocando así la inhibición de las enzimas y proteínas que participan en esta respuesta (LIU *ET AL*. 2011).

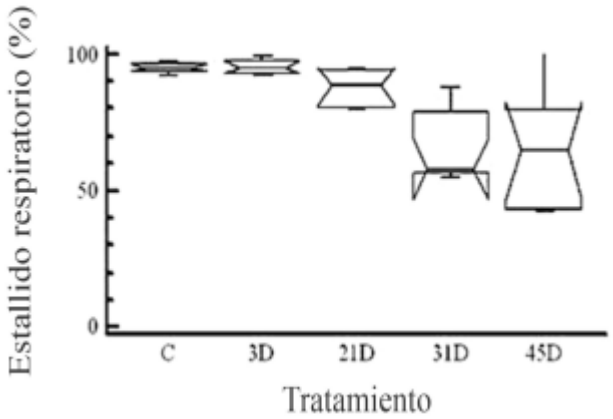


Fig. 5. Estallido respiratorio de leucocitos polimorfonucleares provenientes del pronefros de alevines de Colossoma macropomum expuesto durante diferentes lapsos a 0, 1 mg/L de Cd. C= control, 3D= 3 días, 21D= 21 días, 31D= 31 días y 45D= 45 días

El descenso en el porcentaje de adherencia de las células del pronefros está en concordancia con la alteración de los otros parámetros evaluados (IF, AF y quimiotaxis) ya que la misma, además de tener una estrecha relación con ellos, también ejerce influencia en estos. Posiblemente, la disminución de este parámetro se encuentre vinculada con la estructura de ciertas proteínas claves en el proceso de adhesión celular tales como las integrinas (MOUSA 2004) y las caderinas (VAN ROY & BERX 2008). Las integrinas son proteínas transmembranas, que poseen un dominio amino terminal que se une estrechamente al colágeno y a otras células y pueden actuar como moléculas de adhesión célula-célula. El dominio amino-terminal es el sitio de unión de los ligandos para que puedan unirse a las integrinas. En ambos casos, los dominios de las integrinas incluyen sitios de unión de tres cationes divalentes. Uno de ellos está permanentemente ocupado a concentraciones fisiológicas de los cationes divalentes, y une Ca^{++} o Mg^{++}, los principales cationes divalentes de la sangre (HYNES 2002).

Estudios realizados por DONG *ET AL*. (2009), muestran que el Cd causa disfunción endotelial con relación a la función de las integrinas, este hallazgo es importante ya que relaciona el efecto del Cd sobre la estructura y función de una proteína crucial en el proceso de adherencia y por tanto en el proceso de fagocitosis, lo que está en concordancia con resultados encontrados por MARCANO (2011) sobre la disminución de Ca^{++} y Mg^{++} en peces expuestos a Cd, ya que el Ca^{++} y el Mg^{++} son metales fundamentales para el buen funcionamiento de las integrinas. Es posible entonces concluir que este es otro de los posibles mecanismos por el cual el Cd afecta la fagocitosis.

Estos resultados corroboran los hallazgos de VARGAS (2008) quien demostró el efecto del Cd sobre las células del pronefros de juveniles de *C. macropomum* evidenciado en la disminución de la quimiotaxis de los PMN del pronefros, mientras que SALAZAR-LUGO *ET AL*. (2006) y SALAZAR-LUGO *ET AL*. (2009) determinaron el efecto del cobre y del Cd respectivamente, sobre la respuesta de este organismo estableciendo la sensibilidad del pez ante un tóxico metálico.

En resumen, todos estos resultados se vinculan, *in vivo,* con una disminución de la capacidad de los fagocitos para difundir a la zona del daño, formar seudópodos y por consiguiente fagocitar las partículas extrañas, lo cual a su vez trae como consecuencia implícita e inequívoca que se vea seriamente afectada la respuesta inmune innata de los alevines de *C. macropomum*, como bien puede notarse en los resultados hallados en esta investigación.

CONCLUSIONES

Los hallazgos obtenidos demuestran la acción nociva del Cd para con las células fagocíticas del pronefros de alevines de *C. macropomum* a una dosis subletal de 0,10 mg.L^{-1}. El efecto inmunotóxico del Cd se evidenció por la supresión observada en los procesos de quimiotaxis, respuesta fagocítica y en la efectividad para inducir acción microbicida, mecanismos de protección de primera línea en los procesos de inmunidad innata lo que conlleva a la disminución de la eficacia de los mecanismos microbicidas intracelulares y de la resistencia inmune, aumentando a su vez la susceptibilidad de los peces a las infecciones.

La alteración de las respuestas inmunológicas evaluadas en los PMN del pronefros de alevines de *C. macropomum* evidencian, no solo el efecto del Cd sobre el sistema inmune del organismo, sino que también la alteración del estado de salud de éste.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu J., Marzocchi-Machado C., Urbaczek A., Fonseca L. & Urbinati, E. 2009. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Braz. J. Biol.* 69(4): 1133-1139.

Agencia De Protección Ambiental de los Estados Unidos. 1996. Fish acute toxicity test, freshwater and marine. Ecological effects test guidelines. *OPPTS*. 850.1075. EPA 712-C96-118.

Antón-Marín Y., Rojas L y Salazar-Lugo R. 2015. Cambios ultraestructurales inducidos por el cadmio en pronefros de alevines de *Colossoma macropomum*. *Revista Vet. FCV- LUZ.* XXV (4): 338-345.

Blanco I. 2004. Parámetros hematológicos e inmunológicos de la cachama *Colossoma macropomun* (Cuvier, 1818) expuesta a cloruro de cadmio. [Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela], pp. 40.

Dong Z., Wang L., Xu J., Li Y., Zhang Y., Zhang Z. & Miao Z. 2009. Promotion of autophagy and inhibition of apoptosis by low concentrations of cadmium in vascular endothelial cells. *Toxicol. in Vitro*. 23(1): 105-110.

Eggelton P., Garzan R. & Fisher, D.1989. Rapid method for the isolation of neutrophils in high yield without the use of dextran or density gradient polimer. *Immunol. Meth*. 121: 105-113.

Esteban M., Cuesta A., Chaves-Pozo E. & Meseguer J. 2013. Influence of melatonin on the immune system of fish: A Review. *Int. J. Mol. Sci.*14: 7979-7999.

Fairhurst A., Wallace P., Jawad A. & Goulding N. 2007. Rheumatoid peripheral blood phagocytes are primed for activation but have impaired Fc-mediated generation of reactive oxygen species. *Arthr. Res. Therapy*. 9(2): http://arthritis-research.com/content/9/2/R29.

FERNÁNDEZ, A., RUIZ, I. Y DE BLAS, I. 2002. El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. *AquaTIC*. 17. URL: http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=154.

Geven E. & Klaren P. 2017. The teleost head kidney: integrating thyroid and immune signalling. *Develop. Compar. Immunol.* 66: 73-83.

HART L., SMITH S., SMITH B.,

ROBERSTON J., BESTEMAN E. & HOLLADAY S. 1998. Subacute immunotoxic effects of the polycyclic aromatic hydrocarbon 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA) on spleen and pronephros leukocytic cell counts and phagocytic cell activity in tilapia (Oreochromis niloticus). *Aquatic Toxicol*. 41(1-2): 17-29,

Hynes R. 2002. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*. 110(6): 673–687.

Kamunde C. & MacPhail, R. 2011. Subcellular interactions of dietary cadmium, copper and zinc in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol*. 105(3-4): 518-27.

Kondera E., £ugowska K. & Sarnowski P. 2014. High afûnity of cadmium and cd kidney of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 40: 9–22 DOI 10.1007/s10695-013-9819-1.

Kondera E. & Witeska M. 2013. Cadmium and copper reduce hematopoietic potential in common carp (C*yprinus carpio* L.) head kidney. *Fish Physiol. Biochem*. 37: 755-784.

Kreutz L. C., Gil Barcellos L. J., de Faria Valle S., de Oliveira Silva T., Anziliero D., Davi dos Santos E. & Zanatta R. 2011. Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen)* following short term exposure to sublethal concentration of glyphosate. *Fish Shellfish Immunol*. 30(1): 51-57.

Liu T., He W., Yan C., Qi Y. & Zhang Y. 2011. Roles of reactive oxygen species and mitochondria in cadmium-induced injury of liver cells. *Toxicol. Ind. Health*. 27(3): 249-56.

Marcano A. 2011. Parámetros bioquímicos y análisis estructural del riñón cefálico del pez *Colossoma macropomum* expuesto a cadmio. [Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela], pp. 30.

Milla S., Depiereux S. & Kestemont P. 2011. The effects of estrogenic endocrine disruptors on the immune system of fish: a review. *Ecotoxicol*. 20: 305-319.

Moharran S., Wahbi O. & El-Greisy Z. 2011. Effect of polluted water from Egyptian Eastern Mediterranean Coast on reproductive, toxicological, and hematological characteristics of *Siganus rivulatus*. *Pakist. J. Biol. Scien*. 14(12): 668-681.

Mousa S. 2004. Expression of adhesion molecules during cadmium hepatotoxicity. *Life Sc*. 75(1): 93-105.

Paludan S., Pradeu T., Masters S. & Mogensen T. 2021. Constitutive immune mechanisms: mediators of host defence and immune regulation. *Natur. Rew. Immunol*. 21: 137-150.

Radhakrishnan M. 2010. Immunological effect of cadmium in *Heteroneustes fossilis*. (Bloch, 1794). *Global Veter.* 4(6): 544-547.

Rauta P., Nayak B. & Das S. 2012. Immune system and immune responses in ûsh and their role in comparative immunity study: A model for higher organisms. *Immunol. Lett*. 148(1): 23-33.

Robohom 1986. Parodoxical effects of cadmium exposure on antibacterial antibody responses in two fish species: inhibition in cunners (*Tautogolabrus adspersus*) and enhancement in striped bass (*Morone*

saxatilis). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 12: 251-262.

Rojas-Espinosa O. y Arce-Paredes P. 2004. Fagocitosis: mecanismos y consecuencias. Tercera parte. *Bioquimia*. 29(2): 55-67.

Romano L. 1999. Bioindicadores de contaminación acuática en peces. *Revista AquaTIC*. 7. Disponible en http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp.

Rudneva I., Skuratovskaya E., Dorohova I. & Kovyrshina T. 2012. Use of fish blood biomarkers for evaluating of marine environment health. *Worl. J. Sci. Technol.* 2(7): 19-25.

Rymuszka A. & Sieros³awska A. 2013. Cytotoxic and immunotoxic effects of the mixture containing cyanotoxins on carp cells following in vitro exposure. *Centr. Eur. J. Immunol*. 38(2): 159-163.

Salazar-Lugo R., García N., Villalobos de B. L. & Lemus, M. 2006. Immunological response of freshwater fish *Colosssoma macropomum* as a biomarker of copper exposure. *Bull. Environm. Contam. Toxicol*. 77(66): 925- 930.

Salazar-Lugo R., León A. y Lemus M. 2009. Efecto del cadmio y de la temperatura sobre el conteo de células sanguíneas del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum*. *Rev. Científ,* FCV-LUZ. XIX (1): 6-8.

Siwicki A., Terech E., Grudniewska J., Malaczewska J., Kazun K. & Lepa A. 2010. Influence of deltamethrin on nonspecific cellular and humoral defense mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem*. 29(3): 489-91.

Sokal R. & Rohlf F. 2009. Introduction to Biostatistics. 2th edition. Ed. Blume. Madrid, pp. 366.

Tort L., Balasch J. & Mackensie S. 2005. Fish health challenge after stress. Indicators of immune competence. *Contributions Sci.* (2-4): 443- 454.

Tvermoes B., Bird G. & Freedman J. 2011. Cadmium induces transcription independently of intracellular calcium mobilization. *PLoS ONE* | www.plosone.org 1 (6): 6: e20542.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1996. Fish acute toxicity test, freshwater and marine. Ecological effects test guidelines. OPPTS 850.1075. EPA 712-C96-118.

Van Roy F. & Berx G. 2008. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cel. Mol. Life. Sci*. 65(23): 3756-3788.

Vargas A. 2008. Respuesta inmunológica celular inespecífica de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) expuesta a los metales cobre y cadmio. [Trabajo de Grado. Postgrado de Biología

Aplicada. Universidad de Oriente, núcleo de Sucre. Cumaná], pp.53.

Watanuki H., Gushiken Y. & Sakai M. 2003. In vitro modulation of common carp (*Cyprinus carpio* L.) phagocytic cells by Di-n-butyl phthalate and Di-2-ethylhexyl phthalate. *Aquatic. Toxicol*. 63: 119-126.

Xu P. Liu, D. & Jiang W. 2009. Cadmium effects on the organization of microtubular cytoskeleton in interphase and mitotic cells of *Allium sativum. Biol. Plantarum*. 53(2): 387-390.

Yildirim M., Lima C., Wanb P. & Klesius P. 2003.

Growth performance and immune response of channel catfish *(Ictalurus puntactus*) fed diets containing graded levels of gossypol–acetic acid. *Aquacul*. 219: 751-768.

ZELIKOFF J., CARLSON E., LI Y., RAYMOND A., DUFFY J., BEAMAN J. & ANDERSON M. 2002. Immunotoxicity biomarkers in fish: development, validation and application for field studies and risk assessment. *Human Ecol. Risk Assessment*. 8(2): 253-263.

SCION INSTRUMENTS

A Techcomp Company



CROMATÓGRAFO DE GASES 8500 GC

Establece un nuevo escenario para el uso operativo

El SCION 8500 GC es versátil y ofrece flexibilidad, al admitir tres inyectores y cuatro posiciones de detectores (incluido el espectrómetro de masas) con acceso totalmente independiente, ningún otro sistema de cromatografía de gases ofrece esta capacidad.

SCION 8500 GC es la plataforma para más de 50 analizadores configurados diferentes para aplicaciones de petróleo, petroquímica, gases especiales, química, alimento e investigación.

El GC perfecto para cualquier desafío analítico, gracias a la amplia gama de opciones de configuración.

- **Máxima flexibilidad/configurabilidad.**
- **Aumento rápido (150 °C/minuto).**
- **Arquitectura de tres canales, con hasta 3 puertos de inyección y 4 detectores (incluyendo MS).**
- **Pantalla táctil a todo color de alta resolución de 10", compatible con 16 idiomas.**
- **Flexibilidad para agregar muestreadores, válvulas, horno de válvula, retrolavado y capacidades de cambio de columna, etc. Programado y controlado y a través de CompassCDS.**

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

DSC 214 Polyma

La Solución para una Caracterización Eficiente de Polímeros



El nuevo pack con todo incluido para medidas de DSC

El **DSC 214 Polyma** es fácil de usar, robusto, preciso y optimizado para un uso diario.
El diseño único de este instrumento incluye todo lo necesario para investigaciones optimas con **DSC** – independientemente de si el usuario es novel o un profesional experto.
Además cuenta con dos nuevos desarrollos en software con los mas altos estándares de calidad: **AutoEvaluation e Identify.** Ambos software tienen todo el potencial para revolucionar el análisis de DSC convencional.



- Características térmicas a detectar mediante DSC.
- Temperaturas de fusión y entalpías.
- Temperatura de cristalización y entalpías.
- Temperatura de transición vítrea.
- Tiempo de inducción oxidativa (OIT) y temperatura de inicio de oxidativo (OOT)
- Grado de cristalinidad.
- Temperaturas de reacción y estalpías.
- Reacciones.
- Grado de Curado.
- Capacidad calorífica especifica.
- Distribución del peso molecular del cristal (cualitativo, a través de la forma del pico)

Nuevo pack 360° con todo incluido para la caracterización de polímeros.
Preparación de muestra más fácil que nunca.
Medida y evaluación automatizada.

NETZSCH
Proven Excellence.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS
SERVOLAB
+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42
info@servolab.com
info@servolab-overseas.com
www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com
Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

REACTION OF 3-MERCAPTO-1-PROPANOL WITH ACRYLAMIDE ON GOLD SURFACES

(REACCIÓN DE 3-MERCAPTO-1-PROPANOL CON ACRILAMIDA SOBRE SUPERFICIES DE ORO)

NATALIA N. OLMEDA-VIERA[1], JENNIFER CAMACHO-LUGO[1], CORAL ALICEA-MAUNETO[1], ERIKA SERRANO-DÍAZ[1], ROSA D. BRITO-GÓMEZ[2], ROLANDO J. TREMONT[1]

[1] Department of Chemistry, University of Puerto Rico at Humacao, [2] Faculty of Sciences and Technology, Department of Natural Science, Interamerican University of Puerto Rico

E-mail: rolando.tremont@upr.edu

ABSTRACT

In this work we study the molecular structure formed by the reaction of 3-mercapto-1-propanol (3-MP) with acrylamide (AA) on gold surfaces, through of self-assembly technique. The first step was the formation of a self-assembled monolayer (SAM) of 3-MP on the gold surface, using a 3.0 mM solution in anhydrous ethanol. Then, this monolayer reacted with acrylamide using a 2.5 mM solution of AA in a slightly basic solution. These surfaces were characterized by cyclic voltammetry (CV), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and FT-IR specular reflectance. By CV, 2.5 mM $Fe(CN)_6^{3-}$ solution as the redox active couple was used, in 0.10 M KCl solution. Increasing amount 3-MP and AA on the gold surface, the reduction and oxidation current of ferricyanide species become smaller, indicating a blockade of the surface. In the XPS study, the binding energy peaks of Au, C, O, S, and N were shown. In the 3-MP/Au surface the C, O, and S were presents. In the derivatized surface we obtained clear signals of C-O-C, C=O and $C-NH_2$. The results obtained by FT-IR specular reflectance showed different absorption bands for 3-MP, AA and after derivatization on the gold surface.

Keywords: SAMs; 3-mercapto-1-propanol; acrylamide, chemical derivatization, surface analysis.

RESUMEN

En este trabajo se estudia la estructura molecular sobre superficies de oro formada por la reacción de 3-mercapto-1-propanol (3-MP) con acrilamida (AA), mediante la técnica de autoensamblaje. El primer paso fue la formación de una monocapa autoensamblada (SAM, por sus siglas en inglés) de 3-MP sobre la superficie del oro, utilizando una solución 3,0 mM en etanol anhidro. Luego, esta monocapa reaccionó con acrilamida usando una solución 2,5 mM de AA en una solución ligeramente básica. Estas superficies se caracterizaron por voltamperometría cíclica (CV, por sus siglas en inglés), espectroscopía de fotoelectrón de rayos X (XPS, por sus siglas en inglés) y reflectancia especular FT-IR. Por CV, se utilizó una solución de ferricianuro ($Fe(CN)_6^{3-}$) 2,5 mM como el activo redox, en una solución de KCl 0,10 M. Al aumentar la cantidad de 3-MP y AA en la superficie del oro, la corriente de reducción y oxidación del ferricianuro se hacen más pequeñas, lo que indica un bloqueo de la super-

Reccived: 17/06/2021
Accepted: 02/12/2021

ficie. En el estudio de XPS, se mostraron los picos de energía de enlace de Au, C, O, S y N. En la superficie 3-MP/Au estaban presentes C, O y S. En la superficie derivatizada se obtuvo señales claras de C-O-C, C=O y C-NH_2. Los resultados obtenidos por reflectancia especular FT-IR mostraron diferentes bandas de absorción para 3-MP, AA y después de derivatización sobre la superficie del oro.

Palabras claves: SAMs; 3-mercapto-1-propanol; acrilamida, derivatización química, análisis de superficies.

INTRODUCTION

Acrylamide (AA) is a neurotoxic substance that is formed when we cook foods rich in sugars at high temperatures. This compound is formed when an amino acid reacts with a reducing sugar. (Tateo *et al*. 2010; Anese *et al*. 2011). This substance is present in coffee, chips, cookies, and cereals (Andrzejewski *et al*. 2004; Taeymans *et al*. 2005). The risks of developing cancer and genetic mutations have been proven in animal studies in research laboratories (Von Mühlendahl & Otto 2003; Törnqvist 2005; Capuano & Fogliano 2011). This compound has been classified as a chemical producer with carcinogenic potential and has been included in category 2. Until now, the minimum concentration to be considered dangerous in the human body is not known, although it is not cumulative and is discarded by the body.

The determination of acrylamide in foods has been done by several analytical techniques, including capillary electrophoresis, high performance liquid chromatography, gas chromatography and electrochemistry. The most used technique is high performance liquid chromatography and mass spectroscopy (Dunovská *et al*. 2006; Keramat *et al*. 2011; Tekkeli *et al*. 2012; Vesela & Sucman 2013; Yoshioka *et al*. 2020).

The self-assembly technique allows us to form ordered monolayers of molecules on the metal surface, by adsorption. This allows us to obtain well-defined molecular structures on solid surfaces (Krajewska *et al* 2008). The formation of these organized surfaces allows us to react on them, to be used in molecular recognition on a well-ordered surface (Allara & Unozo 1985; Finklea *et al*. 1986; Swalen *et al*. 1987; Chidsey & Loiacono 1990; Laibinis *et al*. 1991; Finklea & Hanshew 1992; Finklea *et al*. 1993; Ulman 1996; Krajewska *et al*. 2008).

This work is focused on the study of the reaction of 3-MP with AA on gold surfaces using spectroscopic and electrochemical techniques. SAM of 3-MP on gold surfaces was prepared successfully. This reaction was followed by CV, XPS and FT-IR. This new system can serve to recognize the acrylamide compound in aqueous solution.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) (Aldrich, 99%), 3-mercapto-1-propanol ($HSCH_2CH_2CH_2OH$, 3-MP) (Aldrich, 99%), acrylamide ($H_2NCOCHCH_2$, AA) (Aldrich, 99%), potassium chloride (KCl), ethanol Anhydrous (Aldrich, 99.8), sulfuric acid (Aldrich, 99.999%), sodium hydroxide (NaOH, 99%), were used as received. The water used was previously distilled and pumped through a nanopure system (Barnstead) to give 18 MW-cm water. All electrochemical measurements were done at room temperature. The aqueous solutions were degassed with nitrogen for least 30 min prior to an electrochemical experiment.

Cell and instrumentation

The electrochemical cell employed was a conventional three-electrode cell using platinum wire as a counter electrode. All potentials are reported with respect to Ag/AgCl reference electrode. A potentiostat/galvanostat EC Epsilon from BASi, connected to a cell stand C-3 for voltammetry. The cell is equipped with a platinum wire auxiliary electrode (7.5 cm) with gold-plated connector (MW-1032), and a 7.5 cm long RE-5B Ag/AgCl reference electrode with a Vycor frit (the filling solution is aqueous 3 M NaCl that has been saturated with AgCl). Software: EC epsilon version 1.60.70, were used.

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was done using a PHI 5600ci spectrometer with an Al Ka X-ray source at 15 kV and 350 W. The pass energy used was 93 eV for the survey analysis and 59 eV for high energy resolution studies.

The binding energy values reported were corrected using the C 1s signal of the atmospheric contaminants (285.0 eV).

For FT-IR studies a 100 FTIR Spectrometer, from Perkin Elmer, equipped with a Universal ATR (uATR) top plate accessory one refraction. Software: Spectrum version V.6.0, was used.

Substrate pre-treatment

A cleaning treatment was applied to the gold surfaces used, before being modified. The polycrystalline gold electrodes used for the electrochemical measurements were prepared by polishing gold electrodes with 1.0, 0.3, and 0.05 mm Al_2O_3 paste, and then rinsed copiously with nanopure water. Before the modification and derivatization, the cleaning of the electrodes was verified by cyclic voltammetry in a 1.0 M H_2SO_4 solution until the characteristic CV was observed. The electrode was polished with Al_2O_3 paste, again and washed copiously with nanopure water. Finally, they were dried with an argon gas flow. A cyclic voltammogram of a clean gold electrode of 1.6 mm of diameter in 1.0 M H_2SO_4, at 100 mV/s scan rate is shown in **Fig. 1**. The current-potential behavior shown in this figure is characteristic of a clean Au surface in a clean test solution (MACDONALD & JOHNSON 1987; LAIBINIS *ET AL*. 1992; TOGNI & HAYASHI 1995; XING *ET AL*. 2003).

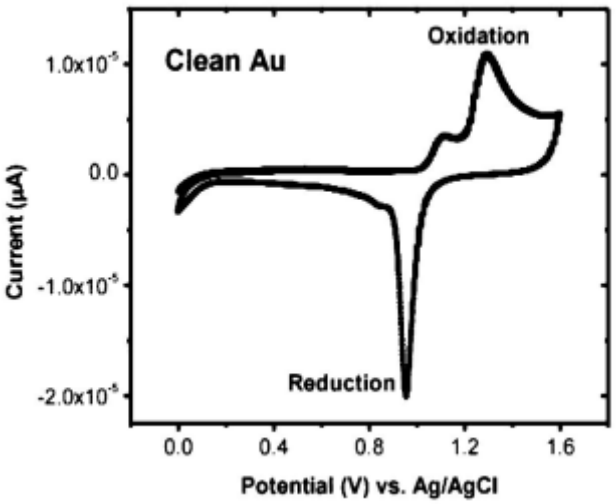


Figure 1. Cyclic voltammogram of clean gold surface in 1.0 M H_2SO_4 solution. Scan rate 100 mV s^{-1}. The solution was degassed with N_2 flow for least 30 min. Measurements were performed at 21 $\pm$ 1 °C.

Preparation of self-assembled of 3-MP on gold surfaces

MAXTEK® gold substrates were used for the surface study. These crystals are composed of 2000 Å of gold on top of a polished AT-cut quartz crystal, using a thin film of chromium or titanium as an underlayer to improve adhesion between gold and the quartz crystal.

Commercial gold disk electrodes (Bio-Analytical System, BAS) of 1.6 mm of diameter were used to carry out the electrochemical study.

The previously cleaned substrates were submerged in a 3.0 mM 3-MP ethanol solution for 24 hours, for surface studies.

Derivatization of the SAMs of 3-MP/Au

The surface modified with 3-MP, was exposed to an AA solution for its derivatization. The reaction was carried out in 2.5 mM AA, in a slightly basic solution, for 48 hours. After this step, the AA/3-MP/Au surface was removed from this solution, rinsed with ethanol, dried with argon and placed in a desiccator to be characterized. **Scheme 1** shows the complete process of modification and reaction on gold surfaces.

RESULTS AND DISCUSSION

Electrochemical studies

To study the modified gold surface with a 3 MP monolayer, the cyclic voltammetry (CV) technique was applied. With this technique it is possible to demonstrate that the gold surface has been modified with this molecule. 2.5 mM of $Fe(CN)_6^{3-}$, in 0.10 M KCl solution, was used to characterize these modified surfaces. The electrochemical responses of $Fe(CN)_6^{3-}$ on these surfaces are shown in **Fig. 2**, corresponding to (a) for clean gold, (b) gold surface modified with 3.0 mM 3-MP for 24 hours, in alcoholic solution (3-MP/Au) and (c) 3-MP/Au surface derivatized with 2.5 mM acrylamide (AA) for 48 hours, in a slightly basic solution. It was noted that the increasing number of organic molecules on gold surface bring as consequence a diminution of the peak current of the reduction and oxidation of ferricyanide species, indicating a blockade of the surface.

The electrochemical responses are clear and an important difference between peak currents of the unmodified and modified surface is observed. The answer in **Fig. 2 (c)** is due to the derivatization achieved on the surface. A possible explanation for this current may be that the molecules are relatively small. Another explanation is the possible presence of active sites on the gold surface, which could be causing current responses to be observed, without the surface being completely blocked. A similar voltammetric behavior was found previously with modified platinum electrodes with 3 mercaptopropionic acid (HSC_2H_4COOH) and 3-aminopropyltrimethoxysilane ($H_2NC_3H_6Si(OCH_3)_3$) (LAIBINIS *ET AL.* 1992; TOGNI & HAYASHI 1995).

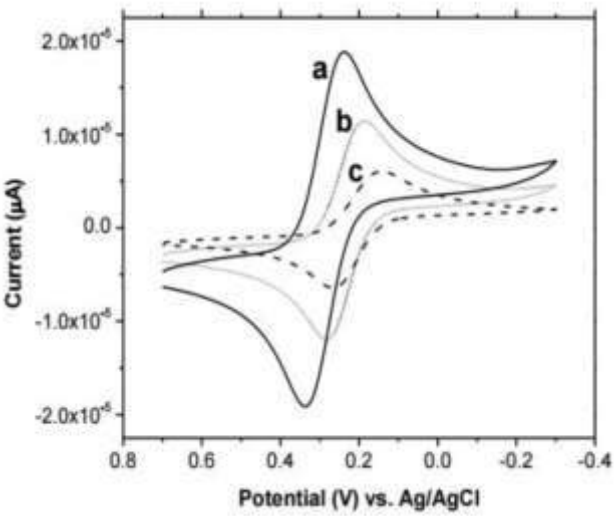


Figure 2. Cyclic voltammograms of 2.5 mM $K_3Fe(CN)_6$ in 0.10 M KCl solution: (a) for clean gold, (b) gold surface modified with 3.0 mM 3-MP for 24 h (3-MP/Au) and (c) 3-MP/Au surface derivatized with 2.5 mM acrylamide solution for 48 h. Scan rate 100 mV s^{-1}. Measurements were performed at 21 $\pm$ 1 °C.

Spectroscopic characterization.

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) studies

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) has been widely used to study the composition of self-assembled thiols. For example, LAIBINIS *ET AL.* (1992) studied the structure and composition of different *n*-alkanethiols on copper, silver, and gold surfaces. In this work, we performed XPS measurements to study the composition of 3-MP/Au SAM and AA/3-MP/Au derivatized on gold surfaces at take-off angle of 45 degrees. The survey XPS spectra of the gold substrate untreated (blank) and treated with 3 mM 3-MP, in ethanolic solution for 24 hours, afterward de-

rivatized with AA, are shown in **Fig. 3** (A, B, and C).

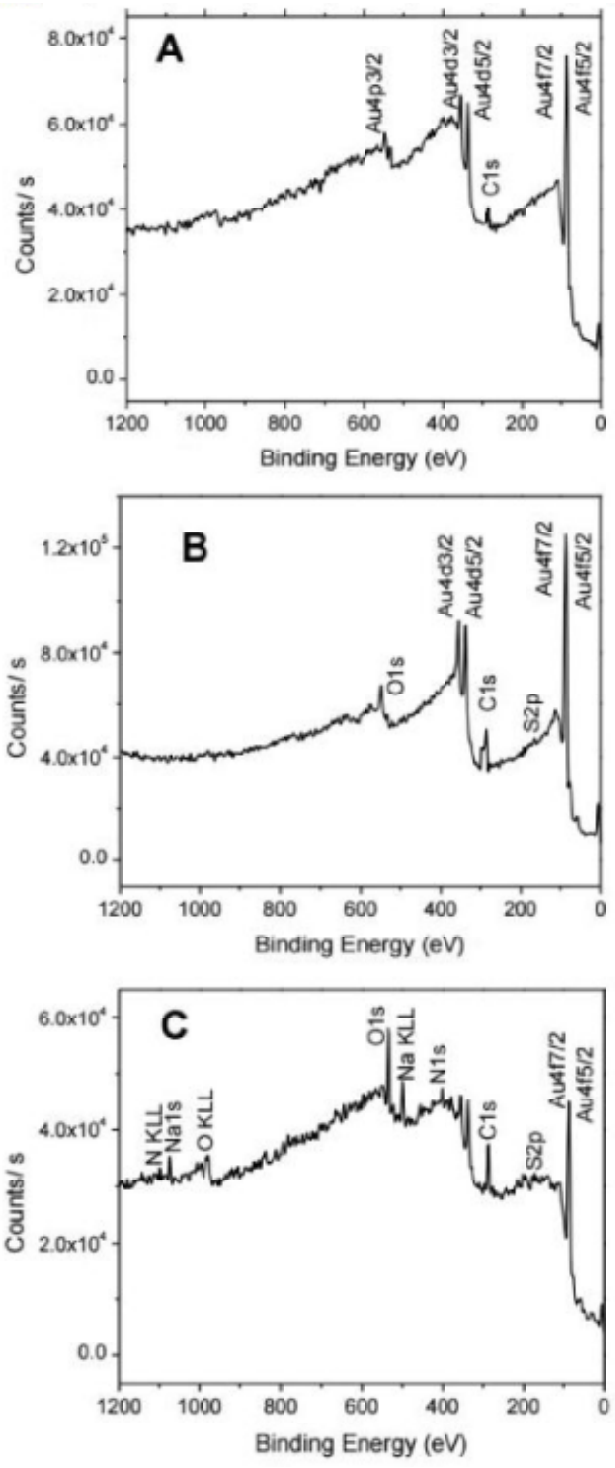
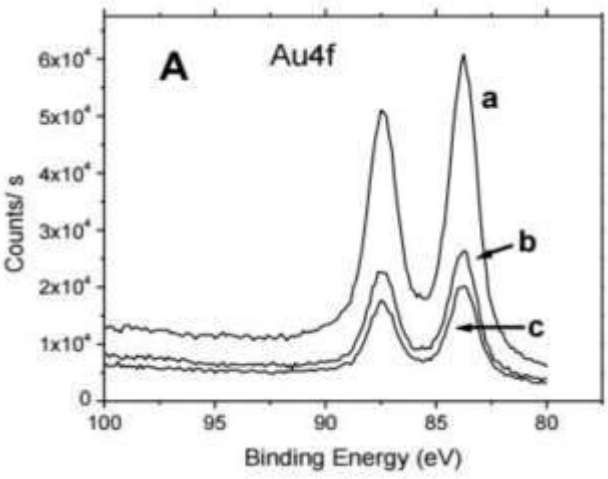


Figure 3. XPS spectra of the (A) bare Au, (B) 3-MP/Au, and (C) AA/3-MP/Au electrode systems.

These spectra showed photoemission peaks that were attributed to the Au, C, O, N, and S atoms that are present in the 3-MP and AA modified gold surface. The spectra in **Fig. 3A** present the binding energy peaks that were attributed to the *Au* ($4f_{7/2}$ and $4f_{5/2}$) and C1s, which are present at the gold clean. The presence of carbon is attributable to environmental pollution. The blank XPS spectrum, shown in **Fig. 3A**, has the same XPS signals as that presented for the Au modified surfaces, with exception of the S2p and O1s signals (**Fig. 3B**). The modification of the gold surfaces with 3-MP is confirmed with the S binding energy peaks. **Fig. 3C** shows the presence of C1s and O1s with greater intensity than in **Figs. 3A and 3B**. It also shows N1s. In addition to the above signals, the presence of sodium is shown, because it was part of the aqueous solution where the derivatization reaction occurred, being trapped in the monolayer (LAIBINIS *ET AL.* 1992; YANG *ET AL.* 2001).

XPS spectra for the core binding energy region of gold are shown in **Fig. 4**. The three spectra, taken under the same instrumental conditions, reveal how the signal of gold is reduced when the Au surface is modified with 3-MP (**Fig. 4Ab**) and derivatized with AA (**Fig. 4Ac**). The decrease on the peak height and area is an indication that these compounds are adsorbed on the Au surface and are blocking the XPS detection of Au 4f photoelectrons.



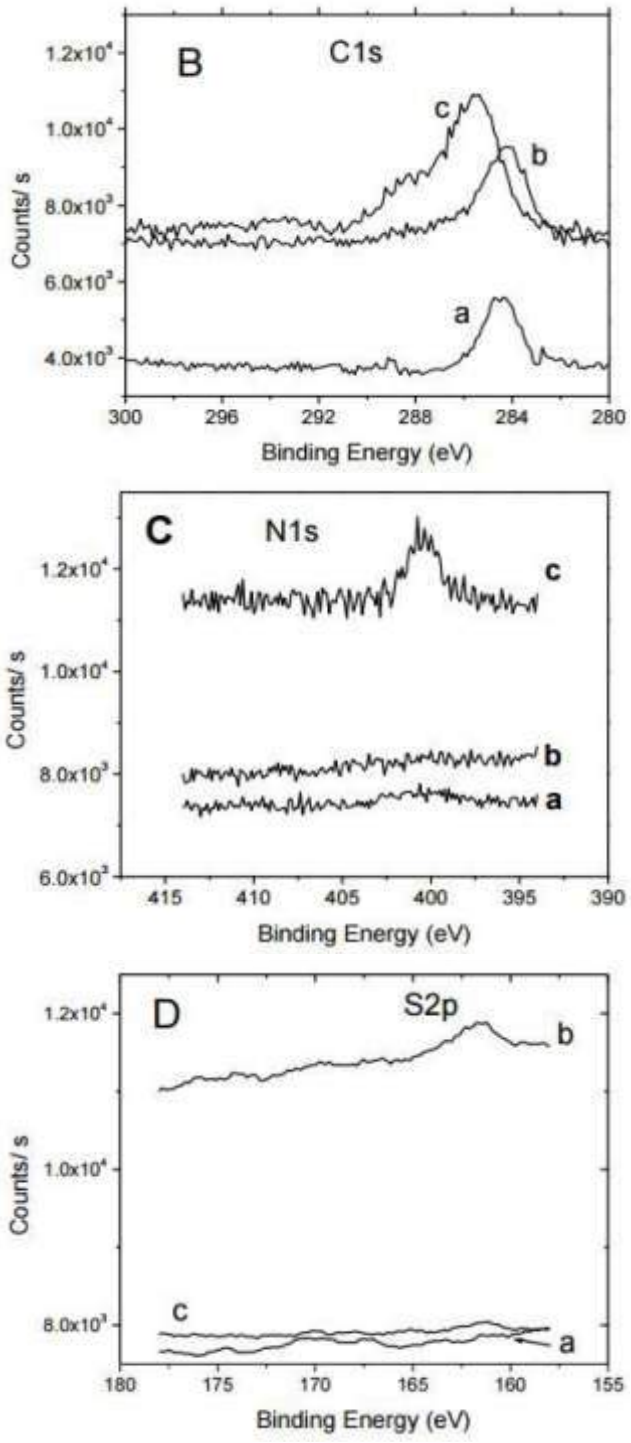


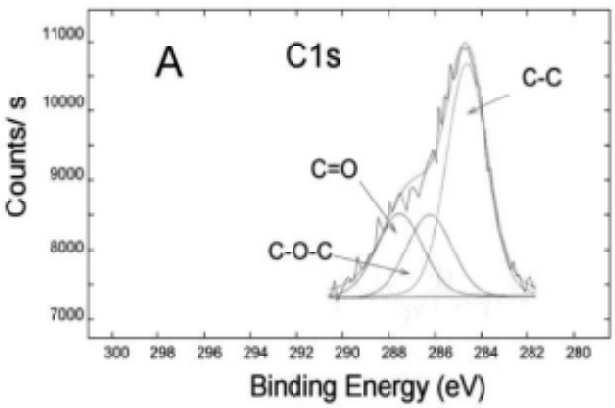
Figure 4. High-resolution XPS spectra for (A) the $Pt4f_{5/2}$ and $Pt4f_{7/2}$ core binding energy region: (a) bare Au, (b) 3-MP/Au, and (c) AA/3-MP/Au electrode systems; (B) XPS spectra for C1s binding energy region: (a) bare Au, (b) 3-MP/Au, (c) AA/3-MP/Au electrode systems; and (C) (a) bare Au, (b) 3-MP/Au, and (c) AA/3-MP/Au electrode systems. Same XPS instrumental analysis conditions were used.

Fig. 4B shows the C1s region, where is observed that the greatest displacement in binding energy is shown by the AA/3-MP/Au surface (**Fig. 4Bc**), presenting a wide peak, where it can deduce several types of carbon on this surface. Figure 5 shows the high resolution XPS to assign the binding energies for each type of carbon, by functional groups.

Fig. 4C shows the N1s region, where the presence of nitrogen in the derivatized surface (**Fig. 4Cc**) is clearly observed. On the others surfaces, only noises were observed, discarding presence of nitrogen.

Fig. 4D shows the S2p region. The presence of sulfur on the surface of 3-MP/Au (**Fig. 4Db**) is clearly observed. The sulfur signal is attenuated on the AA/3-MP/Au surface because the sulfur atom forms a thiolate with the gold surface and the detection of its electrons are blocked by the derivatized molecules (**Fig. 4Dc**).

The chemical derivatization of the 3-MP/Au, with acrylamide, AA, was followed. **Fig. 5** (A, B, and C) shows curve-fitted high-resolution XPS spectra of this derivatization. The C (1s) binding energy region, for the AA/3-MP/Au surfaces (**Fig. 5A**), three peaks are observed. One peak at 287.7 eV, this peak can be attributable to N–C=O, the peak at 286.4 eV attributable to C-O-C, and the peak at 284.6 eV attributable to $-CH_2$ (Allara & Unozo 1985; Finklea *et al.* 1986; Swalen *et al.* 1987).



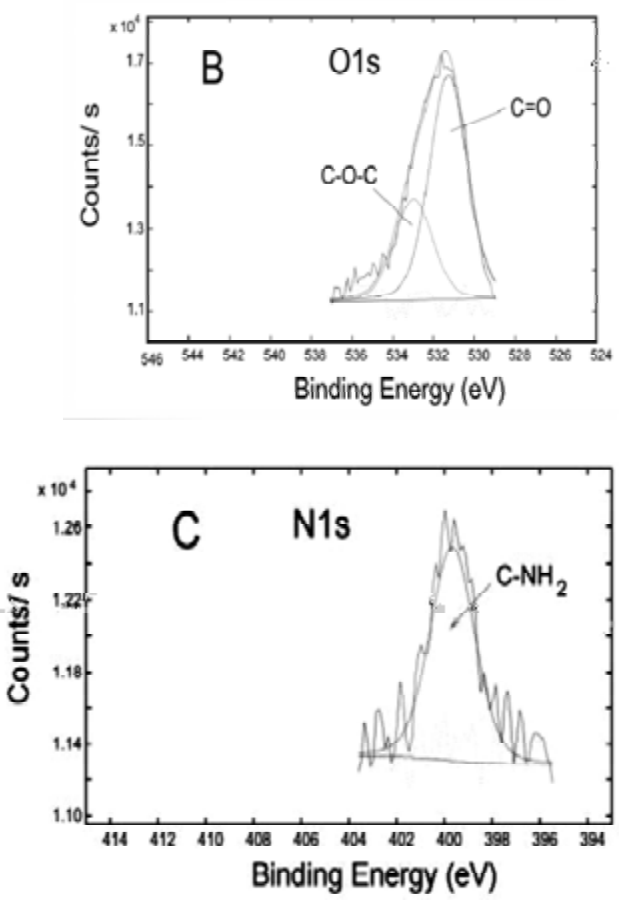


Figure 5. Curve-fitted high-resolution XPS spectra for (A) C1s, (B) O1s, and (C) N1s regions of AA/3-MP/Au electrode system.

Fig. 5B shows the curve-fitted high-resolution XPS spectra obtained for O1s. Here we observe two signals for O1s, one peak at 531.6 eV assigned at –C=O and 532.7 assigned at C-O-C (CHIDSEY & LOIACONO 1990; FINKLEA & HANSHEW 1992; FINKLEA *ET AL.* 1993).

XPS spectrum obtained of the N1s region, only one peak was observed at 400 eV (See **Fig. 5C**), attributable at -NH_2, this observation indicates the presence of amide bonds on the modified gold surface.

The atomic composition of C, O, Au, N and S, for each surface under study is shown in **Table 1**. The C1s signal for the AA/3-MP/Au surface is maximum. The presence of O1s on the 3-MP/Au and AA/3-MP/Au surfaces, is evident. The S2p signal on the 3-MP/Au surface is clearly seen, while it is almost imperceptible for the AA/3-MP/Au surface.

The atomic ratio of carbon to oxygen was calculated from XPS spectrum after each treatment at Au surface. The atomic ratio of C1s/O1s is 3.4 (3:1 for 3-MP/Au and 6:2 for AA/3-MP/Au). The atomic ratio of C1s/N1s is 6.3 (6:1). In these atomic composition ratios, an amount of carbon coming from atmospheric contaminants is observed.

Element	Clean Au (Atomic %)	3-MP/Au (Atomic %)	AA/3-MP/Au (Atomic %)
C1s	19.8	52.9	60.4
O1s	< 0.1	15.5	17.7
Au4f	80.2	19.6	11.4
N1s	0.0	0.0	9.6
S2p	0.0	12.0	0.9

Table 1. Atomic composition (%) on the different Surface from XPS analysis.

The organization of AA/3-MP on Au surface was studied by angle resolved X-ray photoelectron spectroscopy (ARXPS). As the take-off angle decreases, the surface sensitivity of XPS increases (RATNER *ET AL.* 1997; BRITO *ET AL.* 2004). From angle-resolved XPS measurements, the AA/3-MP organization on gold surfaces at 15°, 30°, 45°, 60°, and 75° take-off angles was obtained. The

relative presence for Au4f, at five different take-off angles, to derivatized gold surfaces (AA/3-MP) is shown in **Fig 6a**. It is observed that the relative presence of the substrate was increasing as the take-off angle was decreased. Since, the take-off angle was moved away of the surface and increased the sensitivity in depth, greater

amount of the substrate is detected. The sulfur intensity decreased at greater angles (**Fig. 6b**). On the other hand, the carbon intensity decreased at 75° (**Fig. 6c**). These results indicate that the 3-MP compound have been adsorbed on the gold surface, through the sulfur. This demonstrates the diminution in the carbon intensity and the high presence of N1s (**Fig. 6d**) to greater angles. The amount of oxygen on the surfaces as the angle changes is shown in **Fig. 6e**. The -OH functionality (from 3-MP) being exposed in the film-solution interface has been derivatized, forming O=C-NH_2. Now, the amide will be present in the surface.

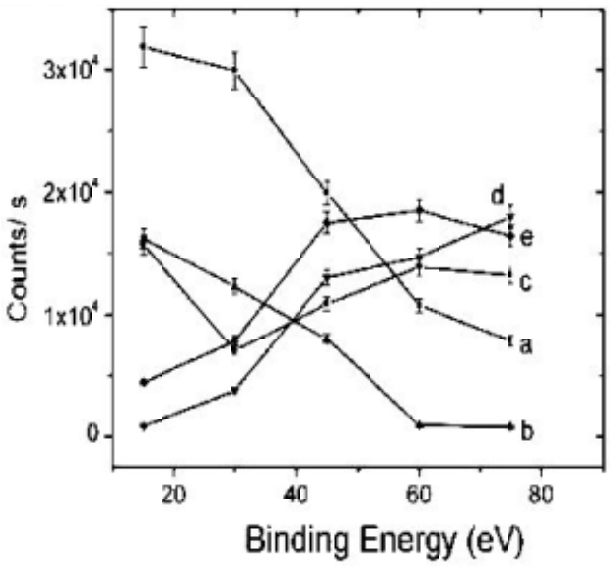


Figure 6. X-ray photoelectron angle resolved measurements for gold surface derivatized with acrylamide. Relative presence for (a) Au4f; (b) S2p; (c) C1s; (d) N1s; (e) O1s.

Infrared Spectroscopy Study

Infrared spectroscopy was another useful tool for studying the processes of chemical transformations on the gold surface. Figures 7A and 7B show the 3-MP and AA spectra, respectively. In the **Fig. 7A** can be observed absorption bands characteristics of the 3-MP. For example, the bands at 3350 cm^{-1}, 2480 cm^{-1}, and 1080 cm^{-1} corresponding to the stretch -OH, -SH, and -C-O, respectively. In the **Fig. 7B** absorption bands at 3369 cm^{-1} and 3177 cm^{-1} corresponding to the stretch -NH_2 can be appreciated. Also, the absorption band corresponding to the stretch -C=O of the acrylamide appear at 1661 cm^{-1}. Finally, the absorption band at 1600 cm^{-1} can be assigned to the C=C stretch conjugated of the acrylamide (Park & Kim 2010).

On the other hand, the IR spectrum of the gold surface derivatized with 3-MP and AA is shown in **Fig. 7C**. Some changes can be observed when this spectrum is compared with the spectra in **Figs. 7A and 7B**. For example, the disappearance of the absorption band at 2480 cm^{-1} (n-SH) is indicative that the 3-MP is adsorbed on the gold surface in the first step of the modification reaction forming Au-S$(CH_2)_3$OH SAMs (**Scheme 1**). Other important fact is the disappearance of the stretch C=C at 1600 cm^{-1} of the AA. In this case an absorption band at 1092 cm^{-1} is appreciated. This band is attributed to the stretch C-O-C of the ether group that can be formed when the -OH group of the 3-MP and the double bond of the AA react in the final step of the derivatization on gold surfaces. The displacement of the stretch -C=O of AA from 1661 cm^{-1} to 1667 cm^{-1} is also be observed. This can be attributed to the effect of the derivatization reaction on gold surfaces in the final step of the reaction. The double bond of acrylamide is electron-deficient and produces Michael-type addition reactions, many of which are reversible. In general, the greater the nucleophilic character of the species it attacks, the faster the reaction will be. Compounds including a hydroxyl group, such as alcohols and phenols, react rapidly with the acrylamide in the presence of a base to form the corresponding ethers $ROCH_2CH_2CONH_2$ (Park & Kim 2010).

These results corroborate the modification of the Au surface and the derivatization achieved with AA, presented in the **Scheme 1**.

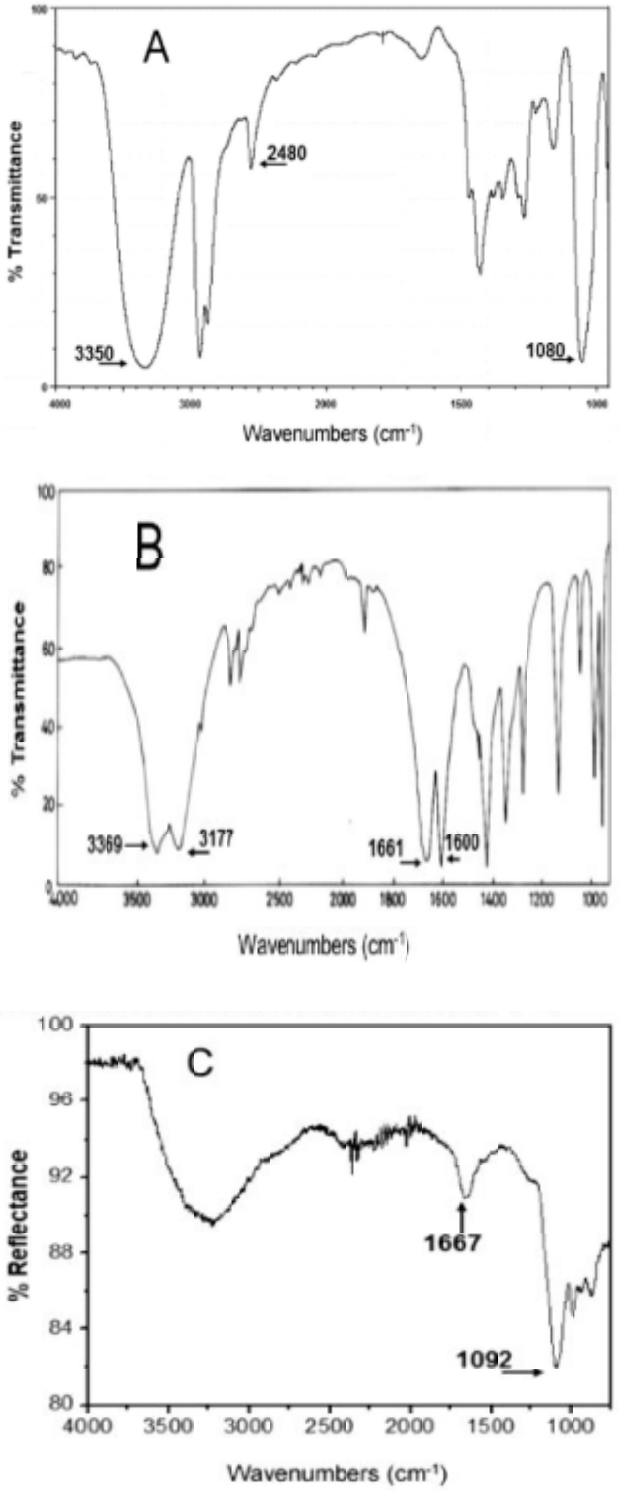
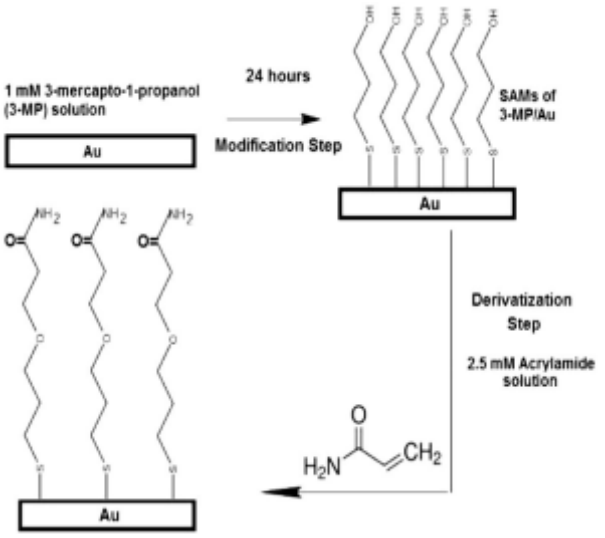


Figure 7. FT-IR spectrum of: (A) 3-mercapto-1-propanol (3-MP); (B) acrylamide (AA); (C) gold electrode derivatized with 3-mercapto-1-propanol and acrylamide measured by specular reûectance.



Scheme 1. Complete process of modification and reaction on gold surfaces.

CONCLUSIONS

The reaction of a-b unsaturated double bond of an amide, as in AA, with a surface that presents SAMs of 3-MP/Au (see **Scheme 1**) is a versatile and synthetically convenient method to generate derivatized surfaces that can be used to study the processes of adsorption. The derivatization of 3-MP/Au systems through Michael Addition reaction is a general procedure for inserting a wide variety of functionalities into modified surfaces. The cyclic voltammetry results indicate that the derivatized gold surfaces, compared with the modified gold surfaces, is most free of mass transfer effects. The spectroscopic analysis showed evidence of the process of chemical transformation on gold surface. XPS analyses indicated that the 3-MP and AA modified and derivatized the gold surfaces, respectively. These analyses also demonstrate the derivatization or conversion of the hydroxyl groups, of 3-MP, to ether groups when AA react with 3-MP, through Michael addition reaction. On the other hand, from the IR specular reflectance studies it was possible to corroborate the results obtained by XPS.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to acknowledge the financial support of the Puerto Rico-Louis Stokes Alliance for Minority Participation (PR-LSAMP) Program, Maximizing Access to Research Careers (MARC-USTAR) Program, the use of facilities of the Materials Characterization Center of the University of Puerto Rico and the collaboration of Dr. Ramonita Diaz-Ayala with the XPS analyses. Also acknowledge the use of Department of Chemistry equipment's, University of Puerto Rico, Humacao Campus.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

Allara D. L. & Nuzzo G. R. (1985). Spontaneously organized molecular assembled, Part 1. Formation, dynamics, and physical properties of n-alkanoic acids adsorbed from solution on an oxidized aluminum surface. *Langmuir*. 1: 45-52.

Andrzejewski D., Roach J. A., Gay M. L. & Musser S. M. 2004. Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/Ms. *J. Agric. Food Chem*. 52 (7): 1996-2002.

Anese M., Quarta B. & Frias J. M. 2011. Modelling the Effect of Asparaginase in Reducing Acrylamide Formation in Biscuits. *Food Chem*. 126 (2, 15): 435-440.

Brito R., Tremont R. Cabrera, C. & R. 2004, Electron transfer kinetics across derivatized self-assembled monolayers on platinum: a cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy study. *J. Electroanal. Chem.* 574: 15-22.

Capuano E. & Fogliano V. 2011. Acrylamide and 5-hudroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT-Food Sci. Science Technol*. 44: 793-820.

Chidsey C. E. D. & Loiacono D. N. 1990, Chemical functionality in self-assembled monolayers: structural and electrochemical properties. *Langmuir*. 6 (3): 682-691.

Dunovská L., Èajka T., HAJŠLOVÁ J. & Holadová K. 2006. Direct determination of acrylamide in food by gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*. 578: 234-240.

Finklea H. O. & Hanshew D. D. 1992. Electron-transfer kinetics in organized thiol monolayers with attached pentaamine (pyridine)ruthenium redox centers. *J. Am. Chem. Soc.* 114 (9): 3173-3181.

Finklea H. O., Ravenscroft M. S. & Snider D. A. 1993. Electrolyte and temperature effects on long range electron transfer across self-assembled monolayers, *Langmuir*. 9(1): 223-227.

Finklea H. O., Robinson L. R., Blackburn A., Richter B., Allara D. L. & Bright T. 1986. Formation of an organized monolayer by solution adsorption of octadecyltrichlorosilane on gold: electrochemical properties and structural characterization. *Langmuir*. 2 (2): 239-244.

Keramat J. Lebail A., Prost C. & Soltanizadeh N. 2011. Acrylamide in foods: chemistry and analysis. *Food Bioprocess Technol*. 4 (3): 340-363.

Krajewska A., Radecki J. H. & Radecka H. 2008. A voltammetric biosensor based on glassy carbon electrodes modified with single-walled carbon nanotubes/hemoglobin for detection of acrylamide in water extracts from potato crisps. *Sensors*. 8(9): 5832-5844.

Laibinis P. E., Nuzzo R. G. & Whitesides G. M.

1992. Structure of monolayers formed by coadsorption of two n-alkanethiols of different chain lengths on gold and its relation to wetting. *J. Phys. Chem.* 96: 5097-5105.

LAIBINIS P. E., WHITESIDES G. W., ALLARA D. L., Y. TAO T., PARIKH Y. T. & UNOZO R. G. 1991. Comparison of the structures and wetting properties of self-assembled monolayers on n-alkanethiols on the coinage metal surfaces Cu, Ag, Au. *J. Am. Chem Soc.* 113: 7152-7167.

MACDONALD J. R. & JOHNSON, W. B. 1987. Impedance spectroscopy. Wiley, New York.

PARK S. J. & KIM K. S. 2010. Surface characterization of carbon materials by X-ray photoelectron spectroscopy, Microscopy, in: A. Méndez-Vilas, J. Díaz (Eds.), Microscopy: Science, Technology, Applications and Education, Formatex.

RATNER B. D. & CASTNER D. G., IN VICKERMAN, J. C. (ed.). 1997. Surface analysis, John Wiley & Sons, New York, Chap. 3.

SWALEN J. D., ALLARA D. L., ANDRADE J. D., CHANDROSS E. A., GAROFF S., ISRAELACHVILI J., MCCARTHY T. J., MURRIA R., PEASE R. F., RABOLT J. F., WYANNE K. J. & YU H. 1987, Molecular monolayers and films. *Langmuir.* 3: 932-950.

TAEYMANS D., ANDERSSON A., ASHBY P., BLANK I., GONDE P., VAN EIJCK V. & FAIVRE S. 2005. Acrylamide: update on selected research activities conduced by the european food and drink industry. *J. AOAC Int.* 88: 234-241.

TATEO F., BONONI, M. & GALLONE, F. 2010. Acrylamide content in potato chips on the Italian market determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45 (3): 629-634.

TEKKELI S. E. K., ONAL C. & ONAL A. 2012. A review of current methods for the determination of acrylamide in food products. *Food Anal. Methods*. 5: 29-39.

TOGNI A. & HAYASHI T. 1995. Ferrocenes: Homogeneous catalysis, organic synthesis, material science. VCH, New York.

TÖRNQVIST M. 2005. Acrylamide in Food: The Discovery and Its Implications, in: Friedman, M. & Mottram, D. (eds.), Chemistry and Safety of Acrylamide in Food. *Adv. Exp. Med. Biol*. 561: 1-19.

ULMAN A. 1996. Formation and structure of self-assembled monolayers. *Chem. Rev*. 96(4): 1533-1554.

VESELA H. & SUCMAN E. 2013. Determination of acrylamide in food using adsorption stripping voltammetry. *Czech J. Food Sci.* 31 (4): 401-406.

VON MÜHLENDAHL K. E. & OTTO M. 2003. Acrylamide: more than just another food toxicant?, *Eur. J. Paediatr*. 162: 447-468.

XING Y. F., O'SHEA S. J., & S. LI F. Y. 2003. Electron transfer kinetics across a dodecanethiol monolayer self-assembled on gold. *J. Electroanal. Chem.* 542: 7-11.

Servolab Science News Vol.1(1): 71-77 (2022) 2 Figs. 3 Tabs.

ON THE MOLECULAR INTERACTION BETWEEN ITACONIC ACID AND ANTIMALARIAL COMPOUNDS BY EMPLOYING DFT CALCULATION

(SOBRE LA INTERACCIÓN MOLECULAR ENTRE EL ÁCIDO ITACÓNICO Y LOS COMPUESTOS ANTIMALARIALES EMPLEANDO EL CÁLCULO DE DFT)

LORRAINE SANCHEZ[1], ELICEO CORTES[2], NORMA RANGEL[3], VIRGINIA FLORES[4], MARYURY FLORES[5], EDGAR MÁRQUEZ[6]

[1]Departamento de Ingeniería Química, Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia. [2]Grupo de investigación en Ciencias Naturales y Exactas, departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de la Costa, Barranquilla, Colombia. [3]Tecnológico Nacional de México/I.T. Aguascalientes, México. [4]Laboratorio de Síntesis Asimétrica y Bioenergética (LSAyB), Ingeniería Química, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, [5]Grupo de Investigación en Fisicoquímica Orgánica y Química computacional, Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. [6]Grupo de investigación en Química y Biología, departamento de Química y Biología, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia.

Email: emarquezbrazon@gmail.com

ABSTRACT

The molecular interactions between four widely used antimalarial, chloroquine, primaquine, quinine, and amodiaquine, with itaconic acid dimer, have been studied by the mean of the Density Functional Theory calculation in both vacuum and water environment, using B3LYP/ ++6-31G(d,p) basis set and PCM model of solvent. Chloroquine, primaquine, and quinine show a suitable interaction with the itaconic acid dimer, with binding energy into the range of -17 to -6.7 kcal/mol. These values of binding energies suggest the formation of stable and exothermic complexes in the field of physisorption energy. By contrast, the positive value of binding energy for amodiaquine indicates a slight chance to be absorbed into the hydrogel polymer. Furthermore, the NBO calculation and the second-order perturbation theory indicate a strong charge-transference from chloroquine and primaquine to the itaconic acid dimer. Besides, these results suppose the interactions are mainly polar where the hydrogen bond plays a pivotal role in the complex stabilization. On the other hand, the CPCM calculations suggest the chloroquine and primaquine complex are stables, with suitable values of both, LogP and dipole momentum, implying the swelling of these complex in water and the eventual drugs controlled delivery from the polymeric matrix.

Keywords: DFT, hydrogel, antimalarial, controlled drugs delivery, binding energy

RESUMEN

Las interacciones moleculares entre cuatro antipalúdicos ampliamente utilizados, cloroquina, primaquina, quinina y amodiaquina, con dímero de ácido itacónico, se han estudiado mediante

Reccived: 13/09/2021
Accepted: 05/12/2021

el cálculo de la Teoría Funcional de la Densidad tanto en ambiente de vacío como de agua, utilizando B3LYP / ++ 6- Conjunto de bases 31G (d, p) y modelo PCM de disolvente. La cloroquina, primaquina y quinina muestran una interacción adecuada con el dímero del ácido itacónico, con una energía de enlace en el rango de -17 a -6,7 kcal / mol. Estos valores de energías de enlace sugieren la formación de complejos estables y exotérmicos en el rango de energía de fisisorción. Por el contrario, el valor positivo de la energía de unión para la amodiaquina indica una pequeña posibilidad de que se absorba en el polímero de hidrogel. El cálculo de NBO y la teoría de perturbación de segundo orden indican una fuerte transferencia de carga de cloroquina y primaquina al dímero del ácido itacónico. Además, estos resultados suponen que las interacciones son principalmente polares donde el enlace de hidrógeno juega un papel fundamental en la estabilización del complejo. Por otro lado, los cálculos de CPCM sugieren que el complejo de cloroquina y primaquina son estables, con valores adecuados tanto de LogP como del momento dipolar que implican el hinchamiento de estos complejos en agua y el eventual suministro controlado de fármacos desde la matriz polimérica.

Palabras clave: DFT, hidrogel, antipalúdico, administración controlada de fármacos, energía de unión.

INTRODUCTION

Malaria is a significant public health issue because it can potentially infect around 3.2 billion people worldwide. From 2016 until the present, 206 million people have been infected globally, mainly affecting children under five years old in regions with the highest incidence rates. Currently, several conventional antimalarial treatments seem to show several disadvantages (Murray et al. 2012; World Health Organization 2016).

The main disadvantages of conventional antimalarial treatment are the toxicity of the drugs applied and the lengthy treatment time. As a result, other organisms might be affected because the excess of toxic drugs can transfer to them during the treatment periods (Murray et al. 2012). On the other hand, antimalarial drugs have become ineffective due to the emergence of multidrug-resistant strains. Thus, the development of new antimalarial drugs and treatments is urgently needed (Murambiwa et al. 2011).

The development of new antimalarial drugs requires significant economic investments and long periods of in-depth research. Therefore, it has been proposing non-conventional treatments to treat this disease efficiently (Al Qaraghuli et al. 2017). These new methods of dosage allow supplying specific amounts of toxic antimalarial drugs to the organism, ultimately decreasing the risk of affecting other orgasms during the treatment (Santos-Magalhães et al. 2010; Fernàndez-Busquets et al. 2016).

Previous studies indicated that a transdermal with a hydrogel matrix patch could efficiently treat malaria. This method has the advantage that it can avoid the first step of the hepatic metabolism by delivering toxic drugs with desired rates. Therefore, diminishing the side effects of the medications in human organs. However, the main limitation of this method is the selection of the suitable hydrogel that will be applied to release specific antimalarial drugs with desired rates (Banga & Chien 1993; Iordanskii et al. 2000; Lee et al. 2008).

Itaconic acid is a monomer often used to synthesize hydrogels because this is innocuous, of low cost, and can easily adhere to the skin (Bera Dey & Chakrabarty 2015). Besides, this acid absorbs a high content of water and has a

high degree of biocompatibility. Furthermore, itaconic acid is a suitable compound for designing hydrogel-systems of drugs dosage (Katime & Rodríguez 2001; Tomiæ et al. 2006; Bera et al. 2015).

The antimalarial drugs often used are chloroquine, primaquine, quinine, and amodiaquine. These compounds are suitable to assess their affinity polymeric matrix because they have functional groups of polar nature that allow them to interact with the hydrogels (Karadaç et al. 1996; World Health Organization 2015).

Ultimately, this assessment will contribute to designing efficient hydrogels systems of dosage; however, each compound's intrinsic nature makes it challenging to perform a pure hydrogel that could have a similar affinity with all of them. Therefore, as a first critical step, assessing the compatibility between different hydrogels and the compounds above is necessary.

In this study, we assessed the molecular compatibility between a model hydrogel system built from itaconic acid and the most common antimalarial compounds: chloroquine (CQ), primaquine (PQ), quinine (QN), and amodiaquine (AQ). To this aim, we applied computational calculations at the level of DFT by using a B3LYP/++6-31G(d,p) basis set. In addition, several molecular descriptors were also calculated (e.g., interaction energy, Gibbs functional, molecular hardness and electronic population analysis).

MATERIALS AND METHODS

To optimize the structure of minimal energy of the antimalarial compounds (chloroquine, primaquine, quinine, and amodiaquine) and their dimers with Itanic acids (DAI), it applied the Density Functional Theory (DFT) at vacuum and water conditions by using Gaussian 16 for Linux. To this aim, the correlation-interchange method of Becke, Lee, and Yang-Parr with three parameters and the 6-31++G(d,p) basis set were used (Frisch et al. 2016).

A dimer of itaconic acid was used as a model for the hydrogel. The energy of interaction (DE_b) was applied as a reference to assess the compatibility between the modelled hydrogel and antimalarial compounds. Thus, negative values of DE_b indicates compatibility, while positive values suggest the opposite.

The values of DE_b were computed on the base set superposition error method energy (BSSE) described in equation 1:

$$\Delta E_b = E_{Complex} - \left| \frac{E_{Model}}{DAI} + E_{drugs} \right| + BSSE \quad (1)$$

$E_{complex}$, E_{Model}, and E_{drugs} were the energies of the DAI-drugs complexes, DAI, and antimalarial compounds, respectively. Finally, BSSE was the base-set superposition error method (Gutowski et al. 2016).

The electron flow direction was assessed by computing DN as indicated in equation 2:

$$\Delta N = \frac{(\mu_B - \mu_A)}{(n_B + n_A)} \quad (2)$$

Where μ and η refer to the electronic potential and global hardness, while A and B are the donor and acceptor molecules of electrons, correspondingly, negative values of ΔN indicated spontaneous electronic flow from A towards B, while positive values suggested an opposite flow direction.

Solvation energy (ΔGs) was computed by the continuous polarization method (C-PCM) as indicated in equation 3.

$$\Delta G_{Solv} = E_{water_complex} - E_{gas_complex} \quad (3)$$

Where $E_{water_complex}$ and $E_{gas_complex}$ correspondingly are the energy of the water and gas complex. The partition coefficient (logP) was also estimated by the Ghose-Crippen method (independent of the wavelength function). This coefficient can provide information about the swelling velocity of the hydrogel because it is a proxy of the hydrogel solubility in the water and lipid phase.

RESULTS AND DISCUSSION

The Newton-Rapson algorithm was applied over all geometrical conformations to assess antimalarial and complex DAI-antimalarial compounds' minimum energy structure (DAI = Dimer itaconic acid). Minimum energy structures are shown in **figure 1**. Dashed lines are used to highlight the dipolar interaction between DAI and antimalarial compounds.

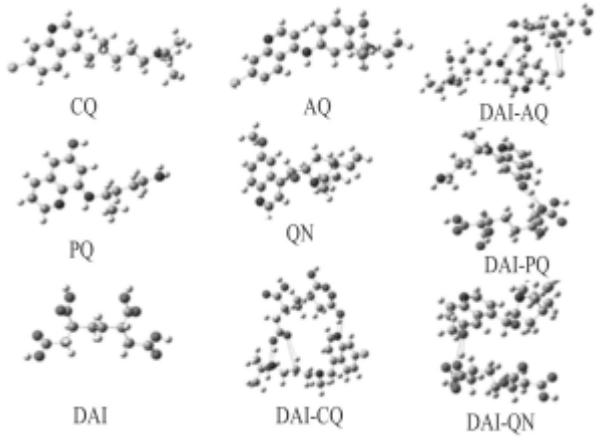


Figure 1. Minimum energy structure for all compounds studied herein, calculated at B3LYP/6-31++G (d, p) theory level.

Table 1 shows the optimization energy for the itaconic acid dimer (EH), antimalarial compounds (EF) and the respective complexes energy (EC), corrected by the mean of BSSE method, using the B3LYP/ 6-31++G(d,p) level of theory. It can note that QN, PQ, and CQ form exothermic complexes with the itaconic acid dimer. These results suggest the complete sorption of this antimalarial into the hydrogel matrix. Moreover, the binding energy means a physisorption process. However, the small and positive ΔE_b value for AQ indicates little interaction with the hydrogel matrix. According to **table 1**, the interaction order of antimalarial compounds with the hydrogel matrix is: ΔE_b(DAI-QN) <ΔE_b (DAI-CQ) <DE_b (DAI-PQ) < <ΔE_b (DAI-AQ).

Table 1. Molecular structure energies (kcal/mol) for the antimalarial (EF), hydrogel model (EH), complexes (EC) and the binding energy ΔE_b using B3LYP/6-31++G (d,p) theory level.

Complex	-EF (kcal/mol)	-EH (kcal/mol)	-EC (kcal/mol)	ΔE_b (kcal/mol)
DAI-CQ	832125.12	622131.36	1454271.55	-15.08
DAI-AQ	925653.64	622131.36	1547779.26	5.73
DAI-PQ	492270.73	622131.36	1114408.81	-6.72
DAI-QN	650453.11	622131.36	1272601.66	-17.20

Frontier molecular orbitals

Figure 2 shows the frontier orbital, HOMO, and LUMO, related to minimum energy structures for all compounds studied herein.

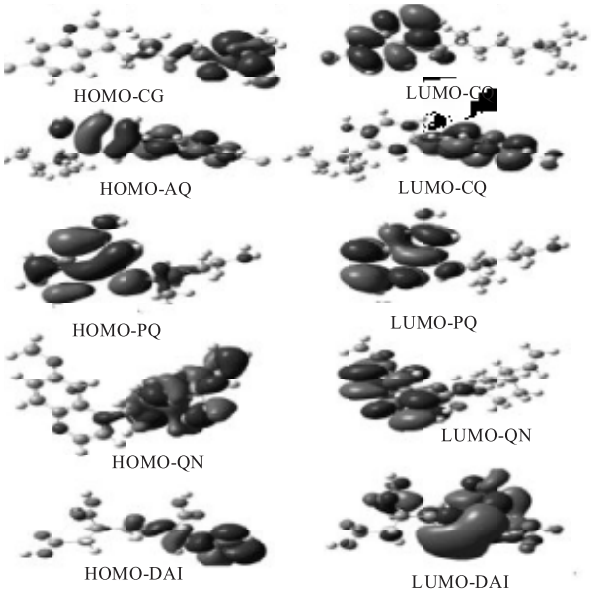


Figure 2. Frontier orbitals for the compounds studied herein, obtained at B3LYP/6-31++G(d, p).

A close inspection reveals that the CQ and QN have frontier orbitals features similar to itaconic acid ones. In addition, the HOMO and LUMO wave functions locate in specific regions, albeit different, of the structure. By contrast, frontier orbitals for AQ and PQ are scattered in the entire system. Thus, these results seem to point to a likely molecular recognition between CQ and QN with the itaconic acid; therefore, they have higher binding energy with hydrogel than AQ and PQ.

The molecular recognition between the itaconic acid and some of the antimalarial compounds guarantees spontaneous sorption into the hydrogel. These results are relevant evidence that encourages the use of itaconic acid hydrogel as a possible vehicle for the controlled delivery of CQ and QN.

Table 2 shows some molecular descriptors derivate from density functional theory. It can note that the band gap (LUMO-HOMO) of CQ and QN complexes is higher than the rest of the compounds, suggesting excellent stability for these complexes. Furthermore, the N values indicate a moderate electron transfer from antimalarial to the hydrogel. These results are associated with dipole-dipole interactions via intermolecular hydrogen bonds.

Table 2. Molecular descriptors for all DAI-antimalarial complexes, computed at B3LYP/6-31++G(d, p).

Molecular Descriptor	DAI-CQ	DAI-AQ	DAI-PQ	DAI-QN
-HOMO (kcal/mol)	153.88	134.17	119.40	136.01
-LUMO (kcal/mol)	55.19	45.73	30.97	43.96
LUMO-HOMO (kcal/mol)	98.67	88.44	88.44	92.06
Hardness global η (kcal/mol)	49.35	44.22	44.22	46.03
-Electronic potential, μ	104.56	89.95	75.19	89.96
-ΔN (hidrogel-antimalarial) kcal/mol	0.09	0.11	0.20	0.10

DAI: Itaconic Acid Dimer, AQ =amodiaquine; PQ=primaquine, QN =Quinine.

QSAR Properties

Table 3 shows values for three fundamental properties with significant influence on drug-delivery systems, i.e, lipophilicity (logP), dipole momentum (μ) and solvation free energy (ΔGsolvat, in Kcal/mol).

Table 3. QSAR properties for all complexes studied herein.

Molecular descriptor	DAI-CQ	DAI-AQ	DAI-PQ	DAI-QN
LogP	-10.17	-3.81	-6.83	-7.53
Dipole momentum (Debye)	12.23	7.65	1.67	4.97
ΔGsolvat (E_{H2O} -E_{gas})	-21.50	155.80	-22.42	-0.31

According to **table 3**, all of the complexes have LogP < 0; these results suggest that complexes could be soluble in physiologic fluids; additionally, except DAI-AQ complex, all of the complexes have momentum dipolar > 5 and negative solvation energy. These results on these descriptors guarantee the suitable molecular interaction between hydrogel chains and the water; thus, the hydrogel could swell and deliver the antimalarial compound.

In the case of DAI-AQ, the positive value of solvation energy suggests a little interaction with water. Thus, the swelling and the diffusion of the drug from hydrogel could be a no spontaneous process.

CONCLUSION

The entire results obtained in this work suggest the experimental study of itaconic acid-based hydrogel as CQ, PQ and QN delivery vehicle. In contrast, the controlled AQ delivery from itaconic acid could be ruled out because of the little affinity of AQ with itaconic acid hydrogel and the non-stability of the complex in the water environment.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

AL QARAGHULI M. M., OBEID M. A., ALDULAIMI O. & FERRO V. A. 2017. Control of malaria by bio-therapeutics and drug delivery systems. *J. Med. Microbiology & Diagnosis*. 6(3): 1000260.

Al Qaraghuli M. M., Obeid M. A., Aldulaimi O. & Ferro V. A. 2017. 2012. Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet.* 379: 413–431.

BANGA A. K. & CHIEN Y. W. 1993. Hydrogel-based lontotherapeutic delivery devices for transdermal delivery of peptide/protein drugs. *Pharm. Res.* 10: 697–702.

Bera R., Dey A. & Chakrabarty D. 2015. Synthesis, characterization, and drug release study of acrylamide-co-itaconic acid based smart hydrogel. *Polym. Eng. & Sci.* 55: 113–122.

Fernàndez-Busquets X. 2016. Novel strategies for Plasmodium-targeted drug delivery. *Expert Opin. Drug Delivery.* 13: 919–922.

Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Petersson G. A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A. V., Bloino J., Janesko B. G., Gomperts R., Mennucci B., Hratchian H. P., Ortiz J. V., Izmaylov A. F., Sonnenberg J. L., Williams-Young D., Ding F, Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V. G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery J. A. Jr., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M. J., Heyd J. J., Brothers E. N., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T. A., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A. P., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Millam J. M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J. B. & Fox D. J. 2016. *Gaussian16 Revision B.01* (Wallingford CT: Gaussian, Inc.).

Gutowski M., Van Lenthe J. H., Verbeek J., Van Duijneveldt F. B. & Cha^{3}asinski G. 1986. The basis set superposition error in correlated electronic structure calculations. *Chem. Phys. Lett.* 124: 370–375.

Iordanskii A. L., Feldstein M. M., Markin V. S., Hadgraft J. & Plate N. A. 2000. Modeling of the drug delivery from a hydrophilic transdermal therapeutic system across polymer membrane. *Eur. J. Pharm.* 49: 287–293.

Katime I. & Rodríguez E. 2001. Absorption of metal ions and swelling properties of poly(acrylic acid-co-itaconic acid) hydrogels. *J. Macromol. Sci. Part A.* 38: 543–558.

Karadaç E., Saraydin D. & Güven O. 1996. Interaction of some cationic dyes with acrylamide/itaconic acid hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* 61: 2367–2372.

Lee J. W., Park J. H. & Prausnitz M. R. 2008. Dissolving microneedles for transdermal drug delivery. *Biomaterials.* 29: 2113–2124.

Murambiwa P., Masola B., Govender T., Mukaratirwa S. & Musabayane C. T. 2011. Antimalarial drug formulations and novel delivery systems: A review. *Acta Trop.* 118: 71–79.

SANTOS-MAGALHÃES N. S. & MOSQUEIRA V. C. F. 2010. Nanotechnology applied to the treatment of malaria. *Advanced Drug Delivery Rev.* 62: 560–575.

TOMIÆ S., SULJOVRUJIÆ E. H. & FILIPOVIÆ J. M. 2006. Biocompatible and bioadhesive hydrogels based on 2-

hydroxyethyl methacrylate, monofunctional poly(alkylene glycol)s and itaconic acid. *Polym. Bull.* 57: 691–702.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2015. Annex 5, Pharmacology of antimalarial drugs in *Guidelines for the Treatment of Malaria*. 3rd edition. Geneva: World Health Organization. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK294433/.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2016. World Malaria Report 2016. *World Health Organization*. https://www.mmv.org/newsroom/publications/world-malaria-report-2016.

Servolab Science News Vol.1(1): 78-85 (2022) 4 Fots. 2 Figs.

EN HONOR AL VIGÉSIMO QUINTO ANIVERSARIO DE LA EMPRESA SERVOLAB. LO MEJOR ESTÁ POR VENIR.

(IN HONOR OF THE TWENTY-FIFTH ANNIVERSARY OF THE SERVOLAB COMPANY. THE BEST IS YET TO COME)

JOSÉ MANUEL MAGO MARCANO[1], MARY CRUZ ARREDONDO DE MAGO[1]

[1]Empresa Servolab Overseas

E-mail: jose.mago@servolab.com.ve

ENTREVISTA

Con motivo del 25 aniversario de la empresa Servolab, se entrevistó a su director general Ing. José Manuel Mago Marcano y a su vicepresidenta Mary Cruz de Arredondo de Mago , con el propósito de conocer los inicios, el presente y el futuro de esta empresa que ha apostado durante estos años por el servicio analítico en Venezuela y Latinoamérica.



Gerencia de Servolab; Presidente José Manuel Mago Marcano y Vicepresidenta Mary Cruz de Mago

El año 2022 es una fecha significativa por el 25 aniversario de Servolab. ¿Cuáles fueron los inicios de la empresa? ¿Cuáles son sus fines, filosofía y misión, con los que se constituyó? Servolab nació de un sueño, rodeado de muchos miedos e incertidumbres, que poco a poco se fue haciendo realidad. Desde los comienzos de la empresa, siempre hemos tenido muy claro lo que queríamos conseguir y cómo lograrlo. Nuestra filosofía de trabajo ha sido la que nos ha guiado durante estos 25 años y la que ha permitido alcanzar las metas que nos hemos ido trazando durante este tiempo.

¿Cómo describiría a Servolab después de estos 25 años de experiencia? Servolab, es una empresa familiar que ha ido creciendo exponencialmente año tras año hasta llegar a ser una empresa referente en Venezuela y Latinoamérica en servicio analítico. Una empresa con un futuro prometedor gracias a los buenos cimientos que hemos ido construyendo durante este periodo de tiempo.

¿Cuáles resaltaría como los hitos que han permitido a la compañía crecer y evolucionar? Es difícil resaltar los hitos más importantes de la compañía. Pienso que lo que ha permitido a la compañía crecer y evolucionar ha sido la manera de afrontar y gestionar los buenos y lo malos momentos. Durante 25 años hemos tenido que hacer frente a muchos acontecimientos, que, en vez de hacernos retroceder, han provocado una reacción positiva que nos han hecho madurar y crecer como empresa.

En su opinión, ¿cuáles han sido los progresos más destacados de la empresa? Destacable ha sido la capacidad de evolucionar invirtiendo en tecnología y sostenibilidad. Éstos son dos términos que van siempre de la mano, ya que la inversión constante en tecnología y los avances que estamos logrando tienen un impacto enorme en lo que a sostenibilidad se refiere. La tecnología es uno de los seis puntos principales de nuestra filosofía de empresa. Esto quiere decir que un muy alto porcentaje de nuestros recursos

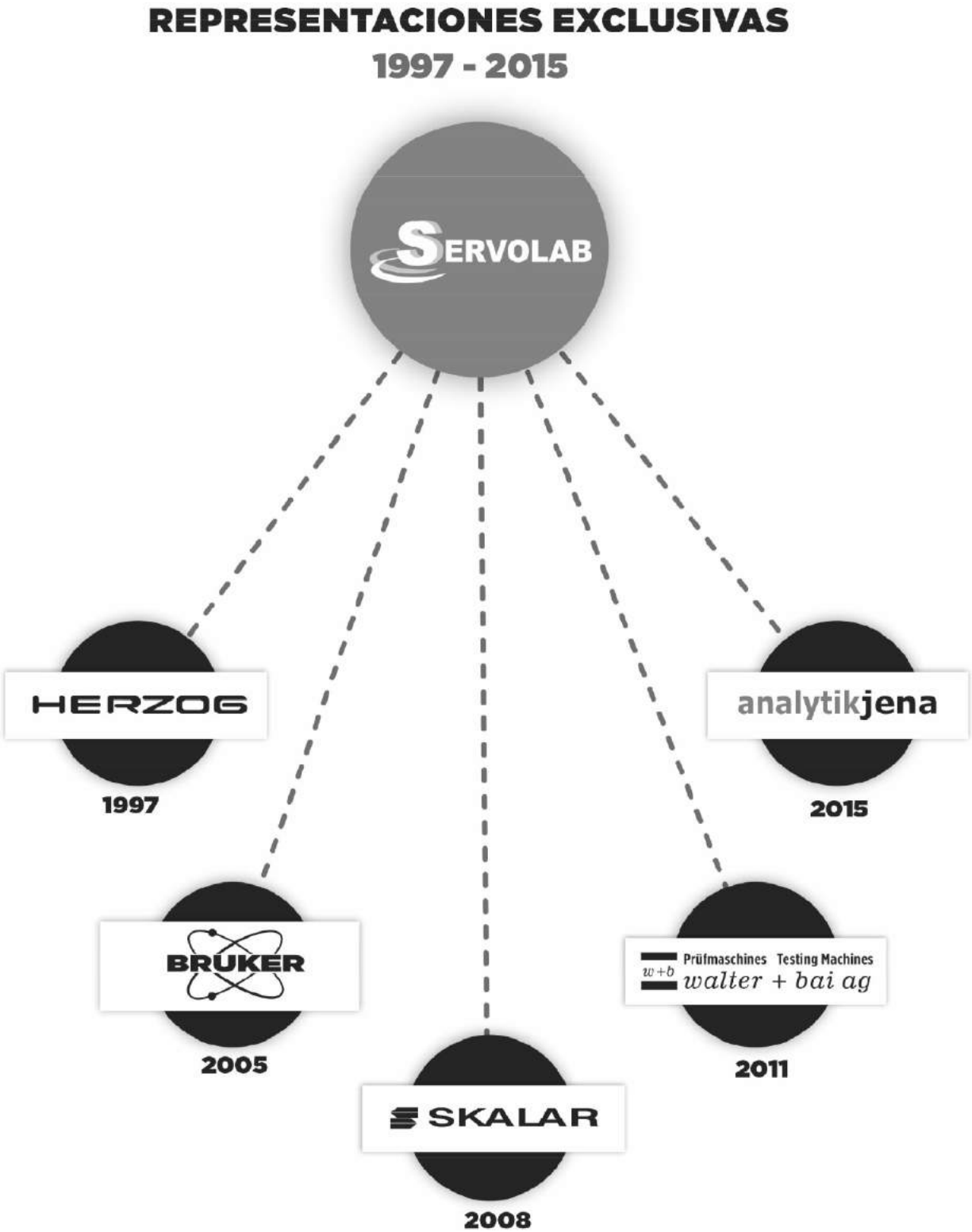


van dirigidos al desarrollo de nuevos productos y sistemas que ofrezcan un punto diferenciador en el mercado. En lo inminente, estamos terminando el trabajo que nos posibilitará acreditar la norma ISO 17025. Nos ha llevado una buena inversión y sobre todo tiempo, estamos convencidos que esto nos permitirá trabajar mejor y sentará las bases para nuestro futuro como empresa organizada y sistematizada. Somos muchas personas en la empresa y trabajar siguiendo los preceptos que la norma establece, nos permitirá estar preparados para hacerlo en forma más armónica y tener la flexibilidad suficiente para ajustarnos a los cambios por venir, sin que eso provoque complicaciones en nuestras operaciones. Hemos iniciado nuestro camino ofreciendo productos de laboratorios analíticos importados de Europa, pudiendo así completar las líneas que comercializamos, lo cual nos da una gran satisfacción. Durante el año 2022 y el 2023 se verán los mayores avances en esta área, que los iremos anunciando paso a paso. Seguimos consolidando los lazos con nuestros proveedores internacionales, hay mucho por hacer y consideramos que fortaleciendo nuestra relación con proveedores nos permitirá mejorar los resultados, las inversiones y desde ya, los tiempos de realización.

En estos 25 aniversarios ¿Cuáles han sido los mejores logros con empresas latinoamericanas durante estos años? Servolab a pesar de ser una empresa regional, en sus inicios, paso ser del contexto nacional, en ese crecimiento gigantesco que se logró en el año 2000, también tenemos la presteza, gracias al apoyo de empresas como BRUKER y HERZOG, de atender países cercanos, como República Dominicana específicamente en plantas de cementos en el Caribe, así mismo, se atendieron plantas de petróleo pequeñas en Colombia, empresas mineras en Perú, además, de empresas siderúrgicas en Ecuador. En esta historia de 25 años, nuestro foco ha sido la empresa, la Universidad y la investigación venezolana, felices porque hemos atendidos empresas latinoamericanas, que a pesar de la situación pandemia mundial todavía siguen siendo nuestros clientes.

¿Cuáles fueron los primeros pasos para implementar el crecimiento de la empresa Servolab a nivel nacional e internacional? Los pasos se están dando ahora mismo, mi esposa Mary de Mago, me ha acompañado desde el principio y estamos dedicados, decididos y enfocados en ser el mejor laboratorio a nivel nacional e internacional, gracias al laboratorio que se logró en la etapa última de la empresa, enmarcado en el periodo 2017- 2022. Servolab, cuenta con las tecnologías más modernas para la caracterización de materiales en Venezuela, operando bajo los entandares conocidos ASTM (American Society for Testing and Materials), ISO (Organización Internacional de Estandarización), EPA (Environmental Protection Agency) y reglas GLP (Good Laboratory Practice Standards). Además, la intensión de la gerencia es obtener para este 2022, si es la voluntad divina, La famosa acreditación ISO 17025 de parte de SENCAMER (Servicio Desconcentrado de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos) en Venezuela y luego obtener la ISS en el exterior.

Servolab está presente en el mercado nacional y en Latinoamérica ¿Cómo ha conseguido una empresa nacional acceder a este reconocimiento por parte del mercado latinoamericano? El hecho de que hayamos nacido en una zona minera, ha facilitado la atención, por años, a empresas como siderúrgicas, empresas de cementos, organizaciones como Bauxilum, generadora de bauxita y alúmina, e incluso EDELCA (Electrificación del Caroní) que ha sido nuestro cliente manejando la electricidad. Además, se mantienen convenios con instituciones de investigación como universidades y la atención a empresas en el mercado latino. Nuestros productos son bien aceptados en Latinoamérica por ser equipos de calidad apostando a ellos sin importar su alto costo, Llegamos a los países más próximos a nuestra empresa, el mercado andino como


REPRESENTACIONES EXCLUSIVAS
1997 - 2015
SERVOLAB
HERZOG
1997
analytikjena
2015
BRUKER
2005
Prüfmaschines Testing Machines
w+b walter + bai ag
2011
SKALAR
2008

Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia, las islas del Caribe. Como primicia damos a conocer que en este año 2022 y el venidero 2023 estamos decididos a atender relaciones con empresas de Guyana, que es un mercado cercano a Servolab y tiene una amplia visión de negocio petrolero, donde tenemos experiencia muy grande.

¿Cómo han evolucionado los productos y servicios desde el año 2000 hasta ahora y de qué manera ha influido en el desarrollo del crecimiento de la empresa Servolab? La clave del éxito ha sido la constancia por parte del equipo directivo y trabajadores. Desde los inicios de la empresa se han visitado empresas nacionales y expuesto a empresas internacionales más importantes del sector. A partir de ahí, se fueron creando contactos que a la larga han sido fructíferos para el desarrollo y crecimiento de nuestra organización, evidentemente una de las evoluciones en estos 22 años, es la tecnología informática con respecto a los sistemas. En los primeros años contábamos con equipos muy grandes, muchos de ellos con perillas, hoy día la evolución de estos equipos es gigantesca, la gran mayoría cuentan con software, que son programas que permiten usarlos de manera rápida, precisa y continua. Para tal crecimiento, hemos tenido el privilegio en la empresa, de ver el desarrollo tecnológico, por más de dos décadas, que muestra aparatos pequeños que tienen software potentes y controlador a app desde un teléfono celular.

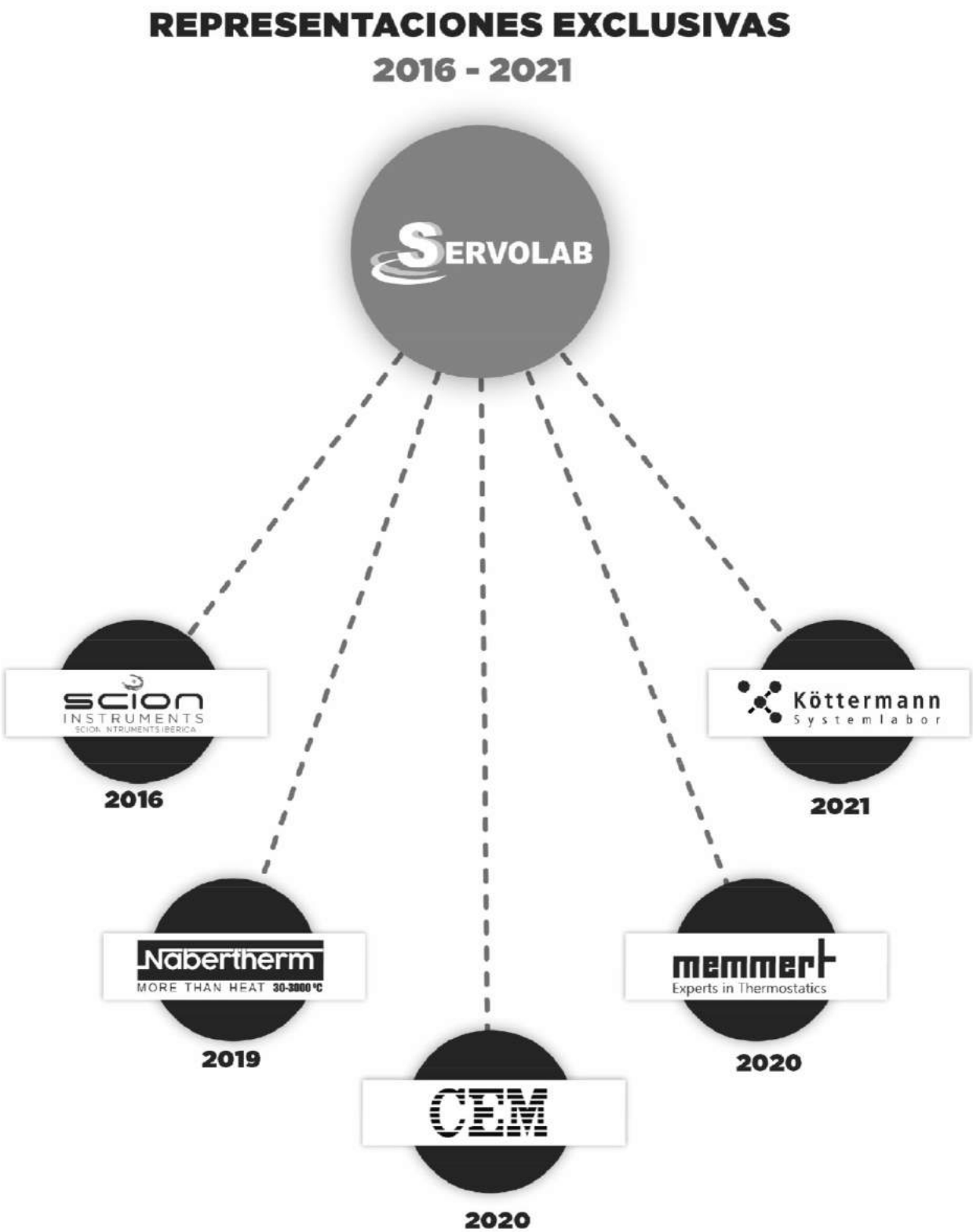


Vice presidenta ¿Cuál es el mayor desafío que has enfrentado con la empresa Servolab? El mayor desafío por la parte económica, fue arrancar con recursos personales a pesar del alto costo de los equipos, aunque nosotros generábamos servicios para estos equipos, cuando nos tocaba una orden, mi esposo José mago y mi persona, nos miramos a la cara preguntándonos, que íbamos hacer con la orden, entonces no era devolverla sino dirigirla directamente a la empresa HERZOG, en vista de ese acontecimiento esa empresa pasa ser reconocida en Venezuela. A partir de ese momento empleamos estrategias que nos ayudaron positivamente a que empresas internacionales confiaran en nosotros como empresa familiar. Por otra parte, la pandemia ha afectado los balances de muchas empresas venezolanas y ha convertido la viabilidad de algunas de éllas en un desafío. Para salir adelante, con Servolab, hemos apostado a reinventarnos, buscar nuevas líneas de negocio, solicitar financiación y mantener unidos y conectados a sus empleados con fórmulas como el teletrabajo. Ahora que las restricciones para contener la Covid-19 se relajan en nuestro país, nos enfrentamos a nuevos retos como la reorganización y la cohesión de sus departamentos, la gestión del trabajo, la retención y la captación del talento. Una circunstancia que, a la vez, supone una ocasión para cambiar de mentalidad y entender la crisis como una oportunidad.

¿Qué es lo que los hace mejores y diferentes respecto a los competidores, ingeniero Mago? En verdad la competencia siempre existe y es sana, es algo que una empresa necesita para permanecer en el tiempo como lo hemos logrado en estos 25 años de trayectoria incansable, apostando al crecimiento de nuestro país. Una de las cosas que nos hace diferente, y la que a nuestros clientes les encanta, es la solidez y robustez que tienen estos sistemas alemanes en su mayoría. También tenemos otros equipos europeos como los suizos, de Bélgica, que sabemos son productos de calidad y con excelente tecnología, agregó José Mago, que, son equipos costosos, pero valen la pena a largo plazo por su utilidad.

¿Qué desea transmitir a nuestro país como un mundo analítico al servicio de la industria? Que tenemos mucho por hacer, mejorar, aprender y desarrollar. La tecnología ha posibilitado aumentar la velocidad de procesamiento, disminuir los índices de error, contar con información más rápidamente que permita hacer diagnósticos en menos tiempo, tenemos más parámetros, se ha mejorado en la sensibilidad y especificidad de muchos de éllos, y se necesitan profesionales cada vez mejor preparados para hacer frente a todo ese cúmulo de nuevas posi-




REPRESENTACIONES EXCLUSIVAS
2016 - 2021
SERVOLAB
scion INSTRUMENTS
SCION INTRUMENTS IBERICA
2016
Köttermann
Systemlabor
2021
Nabertherm
MORE THAN HEAT 30-3000 °C
2019
memmert
Experts in Thermostatics
2020
CEM
2020

bilidades. El recurso tecnológico puede ser muy bueno, pero sin el recurso humano, es incierto lo que se pueda hacer. En la empresa buscamos, además, de la introducción de tecnología, encaminar estar comprometidos con la calidad en nuestro servicio y brindar capacitación a nuestros clientes para que la rutina deje de serlo y se transforme en nuevas posibilidades de crecimiento profesional y personal.

¿Desea agregar algo más? Una de las cosas que más nos han motivado e impulsado a lo largo de estos años es el haber podido crear vínculos sólidos y duraderos con nuestros clientes y proveedores, que nos han permitido sumar amigos, con los que hemos crecido, vivido, sufrido y disfrutado muchos momentos. Por lo tanto, sólo tengo palabras de agradecimiento a todos nuestros amigos, que hicieron posible que hayamos transitado estos primeros 25 años de vida empresarial. Cuando analizo lo que hemos hecho, me llena de un enorme orgullo, y cuando veo lo que estamos planificando hacia el futuro observo que estamos al inicio de un largo camino. ¡gracias, muchísimas gracias! y como siempre digo, con la bendición de Jehová, lo mejor, está aún por venir.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Licdo. Rauso José De La Rosa Castro la conducción acertada de esta entrevista.

NORMATIVA PARA LOS AUTORES

1.- La Revista Científica **Servolab *Science News***, es un órgano de difusión científica interdisciplinaria que publica artículos originales, inéditos, concisos, revisiones, comunicaciones, correctos en su estilo y el uso de abreviaturas, símbolos y términos, que contribuyan al avance y difusión de la investigación científica, principalmente en las áreas de ciencias básicas, ciencias de los materiales, ciencias de la salud, farmacia y alimentos.

2.- Los autores deben enviar el manuscrito original del artículo, a través del correo electrónico y/o sistema de gestión editorial de la revista, en archivo editable en formato de la aplicación Word, en idioma español, inglés y/o portugués, incluyendo cualquier ilustración que complemente el escrito. El trabajo debe incluir un resumen en español y/o portugués y un abstract en inglés al comienzo del artículo, que no exceda a 300 palabras y que comprenda una breve introducción, objetivos, metodología, resultados y conclusión. También deben ser incluidas las palabras clave pertinentes al artículo. Se debe dejar constancia que el trabajo no ha sido publicado ni dirigido a otra revista y revelar todas las entidades financieras y las relaciones personales que puedan haber influido en el estudio, es decir una declaración explícita de existir o no conflicto de intereses.

3.- Los artículos no deben contener declaraciones de carácter político, sin excepción. La Revista Científica **Servolab *Science News***, se reserva el derecho de regresar este tipo de temas con la acotación de no publicable.

4.- El título del extenso debe ser conciso, incluir específicamente lo relacionado con el tema planteado y el orden de los apartes será como sigue: RESUMEN, PALABRAS CLAVE, ABSTRACT, KEYWORDS, INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN O RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONCLUSIONES, AGRADECIMIENTOS (opcional e incluir una vez que el artículo sea aceptado) y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

5.- La Revista Científica **Servolab *Science News***, publica los siguientes tipos de escritos: **Artículos:** Artículos originales producto de trabajos de investigación. **Artículos metodológicos:** presentan metodologías nuevas o significativamente mejoradas. **Revisiones teóricas:** analizan de manera organizada la teoría para explicar el estado del arte sobre un área temática, incluye meta-análisis. **Notas técnicas:** descripciones cortas de investigación original vigente con cierta urgencia de publicación. **Biografías:** aportes de grandes personas científicas, sobre todo pioneras que fungen como modelos de vida y fuente de inspiración para quienes dan sus primeros pasos en carreras relacionadas con los ejes de investigación de la revista. **Experiencias:** artículos amplios, en donde especialistas en diferentes ejes temáticos de la revista recopilen y sinteticen tanto los éxitos como los fracasos en programas, proyectos o metodologías en áreas temáticas particulares, y **Foros:** artículos conceptuales sobre temas de actualidad mundial, latinoamericana o nacional de los ejes temáticos de la revista.

6.- La extensión del manuscrito será a un máximo de 7000 palabras aproximadamente 20 páginas tamaño carta (21,50 x 28,00 cm), con letra de fuente Times New Roman, de tamaño 12 puntos, escrita a doble espacio y con márgenes de 2,50 cm en los cuatro lados.

7.- Las tablas y figuras (fotografías, dibujos, gráficas mapas, originales) deben ser numeradas en forma consecutiva con números arábicos y entregadas digitalizadas en formato PSD, TIFF o JPEG con medidas de 127 x 173 mm sin exceder 203 x 254 mm. Las figuras deben ser incluidas al final del artículo, tener un título breve y

una leyenda con fácil comprensión de contenido. En los párrafos donde corresponda hacer el llamado a la figura, se debe demarcar en negritas la abreviatura (**Fig. #**) con su número correspondiente. Las tablas deben ser tituladas en la parte superior y tener el mismo tratamiento de las figuras, en cuanto a su ubicación en el artículo, su numeración correlativa y su demarcación en negritas cuando se refieran en el contexto la primera vez.

8.- Las referencias bibliográficas deben ser recientes, preferiblemente de los últimos 5 años, salvo excepciones que puedan corresponder a identificaciones de especies o de elementos. Las citas en el texto serán realizadas tomando en consideración el apellido de los autores (escritas en letras con fuente versalitas) y el año de publicación, según sea el caso uno, dos o varios autores (usar *et al* en letras minúsculas y cursivas), por ejemplo: a) Marcano (2021), b) Mago y Arredondo (2019), c) Velásquez *et al*. (2020); cuando el apellido de los autores no forma parte del texto de la oración, las citas deben ser colocadas entre paréntesis, en orden cronológico, y alfabético para las referencias del mismo año, si las hay. Por ejemplo: a) (Vargas, 2015; Yzarra 2016; Palma y Vidal 2017; González 2018), b) (Bolívar 2019; Suarez *et al* 2019; Velásquez y Gómez 2019). Utilice, después del año, letras cuando se haga mención a varias publicaciones de un mismo autor, o varios de ellos, publicados en el mismo año, por ejemplo: a) (Méndez 2015a; Méndez 2015b), b) (Vargas y Suarez 2018a; Vargas y Suarez 2018b). Se respetará la conjunción «y» en su idioma original español y «&» para el inglés.

9.- El apartado de referencias bibliográficas debe presentarse como lista en orden alfabético, expresadas de acuerdo a la normativa internacional en relación al siguiente estilo:

a) Artículos: Apellido del primer autor seguido por las iniciales del nombre; apellido e iniciales de nombres de cada coautor (después de cada inicial de nombre colocar punto seguido de una coma) en formato de letras altas y bajas y en versalitas; a continuación colocar el año de la publicación seguido de un punto; luego el título del trabajo y a continuación un punto; nombre abreviado de la revista (según su abreviatura aceptada internacionalmente) donde se publicó el trabajo seguido de un punto; volumen seguido del número del fascículo en paréntesis y luego dos puntos. Finalmente, la paginación que va desde la página donde se encuentra el título hasta la página de la última referencia bibliográfica, y de existir codificación DOI indicarlo al final como se especifica. Ejemplo:

Velásquez W., Velásquez D., Vargas A., Betancourt J., Belmar D. y Lemus M. 2017. Variaciones metabólicas, enzimáticas y electrolíticas en pacientes urolitiásicos sometidos a litotripsia extracorpórea por ondas de choque. *Saber*. 29(1): 47-54. DOI: 10.1111/jemb.12457.

b) Libros: Los autores se nombran de igual forma que en los artículos; seguido del año de la publicación precedido y seguido de un punto, a continuación, el título de la obra seguida de un punto, le siguen casa editora seguido de una coma. A continuación, la ciudad de publicación seguida de una coma, las letras pp y seguidamente un punto, se finaliza con las páginas citadas. Ejemplo: Velásquez W., Vásquez D., Vargas, A. 2017. Variaciones bioquímicas en pacientes urolitiásicos diabéticos y no diabéticos: Un enfoque clínico epidemiológico. Editorial Académica Española, Madrid, pp. 11 – 15.

c) Informes o trabajos de grado: El nombramiento de los autores, el año de la elaboración y el título del informe son similares a como se realiza en los artículos, seguidamente se coloca entre corchetes ([]) la palabra **informe de… o trabajo de grado para optar el título de** seguida de la institución u organismo y país que publica el informe seguido de punto y el número total de páginas que conforman el informe, finalizando

con las letras pp y un punto. Ejemplo:

Azuaje J. 2021. Determinación de concentraciones de oro, en grado analítico a muestras de oro de la empresa Servolab en el estado Bolívar. [Informe del laboratorio analítico empresa Servolab Overseas Inc.], Venezuela. 37 pp.

Gómez M. y Zarante C. 2009. Perfil epidemiológico de pacientes que consultaron por intoxicación con psicoactivos a una clínica de Medellín. Medellín, Colombia: Universidad CES Medellín [Trabajo de grado para aspirar al título de Tecnólogo de Atención Pre-hospitalaria Universidad CES Medellín], Colombia. 37 pp.

Martínez J. 2006. Factores de riesgo y protección ante el consumo de drogas y representaciones sociales sobre el uso estas en adolescentes y adultos jóvenes. Granada, España: Universidad de Granada, Departamento de Psicología Social y Metodología de las Ciencias del Comportamiento [Tesis Doctoral], 437 pp.

d) Direcciones electrónicas de organismos públicos o de instituciones. Nombre en siglas si las utiliza, seguidamente la descripción de las siglas, año, la frase **Disponible en línea en:** seguida de la dirección *url* y entre paréntesis la fecha del **acceso** a la misma realizada por el autor, ejemplo:

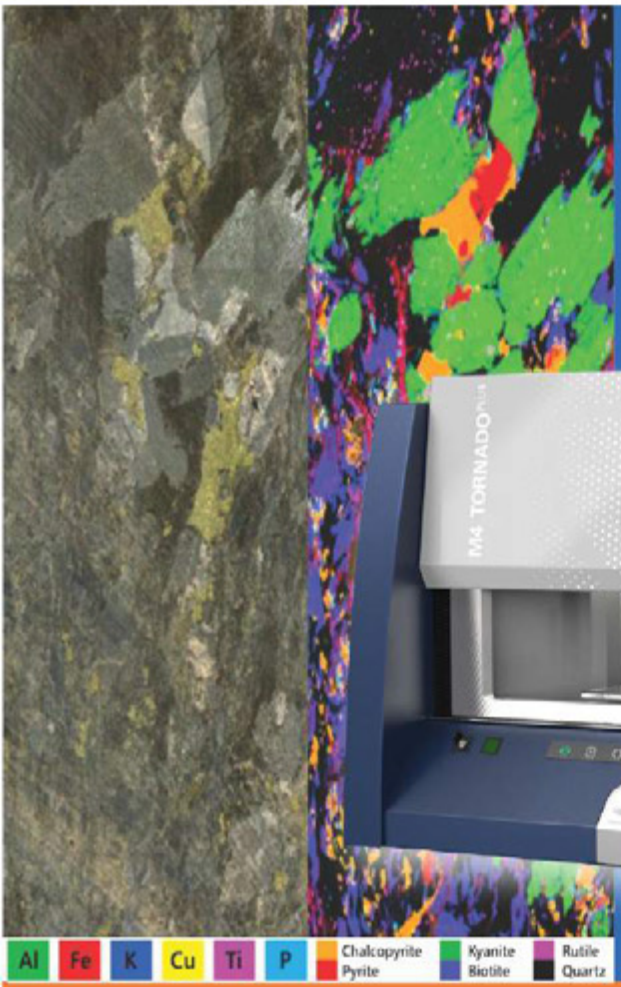
MPPS (Ministerio del Poder Popular para la Salud). 2016. Disponible en línea en: *http://www.mpps.gob.ve.* (Acceso 07.08.2016).

10.- Previo al envío del artículo, éste debe ser revisado exhaustivamente en cuanto a la normativa para los autores de la Revista Científica **Servolab *Science News***, para verificar su estricto cumplimiento.

11.- Después del proceso de arbitraje y una vez aceptado el trabajo para ser publicado, se le solicitará al autor de correspondencia realice los ajustes correspondientes solicitados por el o los árbitros según sea el tratamiento de su manuscrito y notificado por el editor a través del correo electrónico y/o sistema de gestión editorial de la revista, regresando de este modo la versión publicable. Después de un lapso de 90 días continuos sin respuesta por parte del autor a esta solicitud, la revista realizará un retiro administrativo del mismo. De igual modo, también debe consignar el complemento de los datos de identificación de los autores previamente registrado en los metadatos del sistema: nombre completo, cédula de identidad, dirección de habitación u oficina, números de teléfonos y código ORCID.

Ideal para ser usado en aplicaciones geológicas y geoquímicas.

BRUKER



ESPECTRÓMETRO MICRO-XRF M4 TORNADO PLUS



M4 TORNADO PLUS es una poderosa herramienta para el mapeo no destructivo de elementos en tejidos y otras matrices biológicas, plantas, insectos, biomateriales, metales, muestras geológicas, polímeros.
El espectrómetro M4 TORNADO PLUS ofrece análisis de distribución elemental con gran resolución espacial e increíble sensibilidad, pudiendo analizar elementos desde Carbono (C) hasta Americio (Am), en límites de detección hasta ppm, particularmente para metales de transición.
El mapeo sobre la marcha de alta velocidad con condiciones de análisis flexibles hace que estos espectrómetros no solo sean rápidos, sino que también sean capaces de medir rápidamente imágenes espectrales de alta calidad y gran detalle. Uno de los principales beneficios es que no se requiere preparación de muestras.

OPCIONES DE CONFIGURACIÓN DE ÚLTIMA GENERACIÓN

- Capacidad albergar dos tubos de rayos x y dos detectores para un mejor rendimiento analítico.
- Purga de He para aumentar el rendimiento en elementos ligeros pero manteniendo la presión atmosférica en la cámara.
- Cuantificación elemental sin patrones.
- Area de trabajo: WXD: 330mm x 170 mm MAX: carga de peso 7 kg.
- Software Xmethod para cuantificación con estándares, así como cálculo de grosor de capa.
- Software AMICS para análisis automatizado de minerales.(Único en su tipo en el mundo) para analizar fases mineralógicas, desde hasta la B hasta Am.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+58 (286) 715 43 03
+1 (786) 314 71 42

info@servolab.com
info@servolab-overseas.com

www.servolab.com.ve
www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100

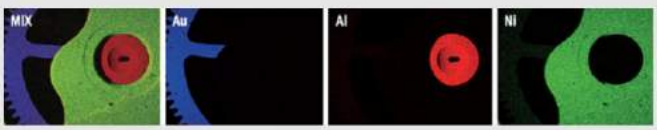
HITACHI
Inspire the Next

MICROSCOPIO DE BARRIDO TM4000PLUS II

ALTA TECNOLOGÍA DE HITACHI







¡El futuro de microscopios de mesa ya está aquí!

TM4000Plus II

El TM4000Plus II presenta innovación y tecnologías de vanguardia que redefinen las capacidades de un microscopio de mesa. Esta nueva generación de microscopios de sobremesa Hitachi de larga data integra la facilidad de uso, imágenes optimizadas y alta calidad de imagen, al mismo tiempo que mantiene el diseño de sobremesa compacto.

El TM4000Plus II está equipado tanto con un detector SE de bajo vacío de alta sensibilidad como un detector BSE de 4 segmentos de alta sensibilidad. Tiene capacidad para un tamaño de muestra máximo de 80 mm de diámetro y 50 mm de espesor.

Características y beneficios clave

- Detector SE de alta sensibilidad y bajo vacío.
- Creador de informes simples.
- Óptica electrónica de última generación para alta resolución y calidad de imagen.

Aplicaciones

- Semiconductores.
- Ciencias de la vida.
- Ciencia de los Materiales.

REPRESENTANTE EXCLUSIVO DE VENTAS Y SERVICIOS

SERVOLAB

+1 (786) 314 71 42

info@servolab-overseas.com

www.servolab-overseas.com

Servolab Overseas Inc
Doral FL 33172
10913 Nw 30th St #100