

CIENCIAS DE LA VIDA - #11

REVISTA

**DE LAS JORNADAS DE
JÓVENES INVESTIGADORES**

**LA EDUCACIÓN Y LA CIENCIA
TRANSFORMAN REALIDADES**



**Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO**



**UNIVERSIDAD
NACIONAL ✦
DE TUCUMÁN**

Revista de las Jornadas de Jóvenes Investigadores
Eje Ciencias de la Vida, Volúmen 11.

© 2025, Asociación de Universidades del Grupo Montevideo.

ISSN 3121-2190

Tucumán, Argentina. Noviembre de 2025.



**Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO**



**UNIVERSIDAD
NACIONAL ♦
DE TUCUMÁN**

Contenido

Associação das espessuras do coxim digital, da sola e da gordura corporal dorsal determinadas ultrassonograficamente em vacas girolando.....	6
<i>Marianna Tragueto</i>	
Patrones de multimorbilidad en personas mayores nonagenarias y cuidadores familiares en el contexto de la atención primaria de salud.....	23
<i>Inгриidy Maciel</i>	
Evaluación agronómica de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã, departamento de Alto Paraná.....	43
<i>Alan Ríos Miranda</i>	
Relación entre el índice inflamatorio de la dieta, niveles plasmáticos de interleucina-1 β y el riesgo de enfermedad cardiovascular en adultos chilenos.....	54
<i>Valentina Baccaro</i>	
Evaluación de la función cardíaca <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> en ratas diabéticas pre y perimenopáusicas.....	71
<i>Matías Ortega</i>	
Evaluación de la prevalencia de infecciones vaginales en gestantes atendidas en el Hospital Regional de Concepción, Paraguay, 2020-2024.....	93
<i>Sofía Gaona</i>	
El ejercicio aeróbico de corta duración desencadena mecanismos adaptativos cardíacos en la obesidad.....	102
<i>Gustavo Pereira</i>	
Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis en caninos domésticos del sur de Santa Fe y Córdoba, Argentina.....	116
<i>Gimena Olarreaga</i>	
Asociación entre la estimulación simpática y la disminución de la fuerza prensil en adultos.....	114
<i>María Saavedra</i>	
Rol <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de PTHrP en la quimiorresistencia al oxaliplatino en las células de cáncer colorrectal.....	140
<i>Cintia Birkenstok</i>	

La inhibición del eje Heparanasa-1/Syndecan-1 en cáncer de mama triple negativo (TNBC) reduce la plasticidad tumoral y estimula el desarrollo de un entorno inflamatorio antitumoral.....	161
<i>Paolo Rosales</i>	
Efectos del STZ-icv sobre la morfología glial y la neurodegeneración hipocampal en ratas macho: análisis a corto y mediano plazo.....	181
<i>Ana Vidal Escobedo</i>	
Estudio de la interacción de la proteína no estructural 5 de Flavivirus con ARN del huésped por métodos bioinformáticos.....	201
<i>Mauricio Challiol</i>	
Cetamina prejudica o desempenho de camundongos machos no teste de reconhecimento de objeto novo e reduz a imunorreatividade do GAD67 no hipocampo: papel da pioglitazona.....	213
<i>Talita Rodrigues</i>	
Actividad antifúngica, antimicotoxigénica y acción sobre membranas de un extracto de <i>Justicia xylosteoides</i> frente a <i>Fusarium graminearum</i>	233
<i>Mariana Sánchez</i>	
Efecto de la combinación de sustrato en la emergencia y desarrollo de plántulas de tomate <i>Var santa adelia super</i>	245
<i>Aracelly Ayala</i>	
Efecto de la incorporación de fibras en las características fisicoquímicas, reológicas y sensoriales de yogures bajos en grasas.....	254
<i>Constanza Mancagno</i>	
Revalorización de los subproductos biomásicos de la actividad forestoindustrial de Tucumán.....	271
<i>Gabriel Martinez</i>	
Análisis temporal parcial de la diversidad de especies de mosquitos en áreas urbanas, rurales y del Bosque Atlántico de Paraguay entre 2013 a 2024.....	287
<i>Darian Cáceres</i>	
Transferência trófica de microplásticos? Evidências da retenção prolongada em <i>Pomacea figulina</i>	303
<i>Natália Woppe</i>	

Modelo de intervención para la mejora del abastecimiento de agua potable en Santiago – Misiones.....	311
--	-----

Lucerito Arregui

Impacto de la pandemia COVID-19 en la prevalencia del Síndrome de burn out en el recurso humano en salud de tres terapias intensivas de la ciudad de Bahía Blanca.....	320
--	-----

Candela Giuffre

ASSOCIAÇÃO DAS ESPESSURAS DO COXIM DIGITAL, DA SOLA E DA GORDURA CORPORAL DORSAL DETERMINADAS ULTRASSONOGRAFICAMENTE EM VACAS GIROLANDO

Autor: Venancio, Marianna Traguetto; marianna.traguetto@discente.ufg.br

Co-autor(es): Filho, Antônio Dionísio Feitosa Noronha; Alves, Isabella de Sousa; Arnhold, Emmanuel; Silva, João Victor Palmeira; Borges, Naida Cristina; Queiroz, Paulo José Bastos; Cunha, Roberta Dias da Silva.

Orientador/a: Cunha, Paulo Henrique Jorge; phcunha@ufg.br Universidade Federal de Goiás / Escola de Veterinária e Zootecnia

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar, por meio da ultrassonografia, as variações na espessura da gordura corporal dorsal, do coxim digital e da sola em vacas Girolando durante o período de transição. Foram avaliadas 21 vacas (5 primíparas e 16 multíparas), com idades entre 2 e 9 anos, criadas em sistema semi-intensivo em Goiânia (GO). As mensurações ultrassonográficas foram realizadas com aparelho portátil Sonoscape® e transdutor linear de 6,0 a 7,0 MHz em cinco momentos: 30 dias antes da data provável do parto e aos 7, 30, 60 e 90 dias pós-parto. A produção mensal de leite foi registrada no sistema Smartmilk®. A análise estatística foi conduzida no software R, com ANOVA e teste de Tukey para variáveis paramétricas ($p < 0,05$), e o teste de Shapiro-Wilk para normalidade. Observou-se redução significativa ($p < 0,05$) na espessura da gordura corporal dorsal ao longo do período avaliado, passando de 1,62 cm (30 dias pré-parto) para 1,46 cm (7 dias pós-parto) e 0,85 cm (90 dias pós-parto). A espessura do coxim digital no dígito lateral do membro pélvico direito aumentou significativamente ($p < 0,05$) entre 7 dias (0,64 cm) e 90 dias pós-parto (0,75 cm). Já a espessura da sola variou significativamente ($p < 0,05$) nos dígitos do membro pélvico esquerdo e no dígito medial do membro pélvico direito entre os momentos pré-parto e 60 dias pós-parto.

Palavras-chave: bovinos leiteiros, claudicação, afecções podais, lesões de ruptura de estojo córneo

Objetivos

Objetivo Geral

Avaliar as medidas ultrassonográficas de espessura do coxim digital, da sola e da gordura corporal dorsal de vacas leiteiras da raça Girolando criadas em sistema semi-intensivo.

Objetivos Específicos

- Registrar a produção mensal de leite;
- Aferir a espessura da gordura corporal dorsal por ultrassonografia;
- Determinar a espessura do coxim digital e da sola por ultrassonografia;

Materiais e métodos

Local do experimento

O experimento foi realizado na Fazenda Escola da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, localizada em Goiânia (GO), no período de novembro de 2022 a junho de 2023. Neste período há a maior incidência de chuvas na cidade do experimento. No verão 2022/2023 foram 62 dias de chuva na estação convencional de Goiânia, totalizando 822,2 mm (INMET, 2023).

A fazenda possui 53 fêmeas da raça Girolando em lactação, com uma produção média de aproximadamente 18 litros/animal considerando duas ordenhas/dia e são mantidas em sistema semi-intensivo.

Os animais da fazenda (126 fêmeas) são separados em diferentes lotes: bezerras (25 fêmeas), novilhas (25 fêmeas), vacas em lactação (53 fêmeas), vacas secas (15 fêmeas) e pré-parto (8 fêmeas).

A distância entre o piquete dos animais em lactação e a sala de espera da ordenha é de aproximadamente 130 m com vias de acesso contendo terra e pedregulhos. As vacas em lactação permanecem na sala de espera (pré-ordenha) com piso de cimento por aproximadamente 30 minutos sob aspersão nas duas ordenhas diárias (Figura 1).



FIGURA 1 – Sala de espera da Fazenda Escola da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Fonte: Arquivo pessoal.

A sala de ordenha possui ordenhadeira automática com sistema em espinha de peixe e capacidade para 8 animais. Após a ordenha, os animais

passam pelo pedilúvio e recebem o concentrado no curral de alimentação, que também apresenta piso de cimento, antes de retornarem ao piquete.

O pedilúvio da fazenda (Figura 2) fica localizado após a saída da sala de ordenha e contém soluções sanitizantes (formol a 5% intercalada semanalmente com hipoclorito de sódio 3%) diluídos em 200 L de água. A limpeza do pedilúvio e a troca da solução sanitizante é realizada a cada 48 horas.



FIGURA 2 – Pedilúvio da Fazenda Escola da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Fonte: Arquivo pessoal.

Comitê de Ética no Uso de Animais

O projeto está cadastrado no Comitê de Ética no Uso de Animais da

Universidade Federal de Goiás (CEUA-UFG) com registro número 006/20.

Grupos Experimentais

Para a realização do experimento foram utilizados 5 vacas primíparas e 16 vacas múltiparas, da raça Girolando com dois a nove anos de idade.

Momentos e parâmetros de avaliação

Os momentos de avaliação foram 30 dias antes da data prevista para o parto, e quatro momentos após parto: 7, 30, 60 e 90 dias.

A informações referentes aos dias em lactação (DEL), data do parto e a produção média mensal de leite foram obtidos do programa de gerenciamento da fazenda (Smartmilk®).

Os seguintes parâmetros foram avaliados em todos os momentos: espessura da gordura corporal dorsal (EGCD) e espessura do coxim digital (ECD) e da sola do casco (ES). Além disso, foi realizada dosagem sanguínea de Beta-hidroxibutirato (BHB).

Os animais no momento 30 dias antes da data prevista para o parto foram submetidos ao casqueamento funcional nos animais saudáveis e terapêutico nos animais que apresentaram afecções podais utilizando o método Holandês (GARGANO, 2020).

Ultrassonografia da espessura da gordura corporal dorsal (EGCD)

A medição ultrassonográfica da espessura de gordura corporal dorsal foi realizada com um aparelho de ultrassom portátil da marca Sonoscape® com um transdutor linear da mesma marca em uma frequência de 6,0 a 7,0 MHz.

Para a realização do procedimento os animais foram colocados em um tronco de contenção em posição quadrupedal. O local da ultrassonografia foi limpo e o contato do transdutor com a pele no animal foi realizado usando gel condutor, não sendo necessário a tricotomia.

A técnica utilizada para a mensuração da espessura de gordura corporal foi a mesma utilizada por Newsome et al. (2017) e Schröder et al. (2006). O transdutor foi posicionado verticalmente a uma linha imaginária entre a tuberosidade ilíaca e a tuberosidade isquiática (Figura 3). O aparelho foi posicionado de maneira leve e perpendicular à posição anatômica da gordura e músculo, evitando a compressão dos tecidos e, conseqüente, distorção da imagem. Para fins comparativos, o ECC foi realizado do lado esquerdo em todas as avaliações.



FIGURA 3 – Marcação realizada entre a tuberosidade ilíaca e isquiática para a realização da mensuração da espessura da gordura corporal dorsal (em branco). Ponto de apoio da probe para a mensuração da espessura da gordura corporal dorsal (em vermelho).

Fonte: Arquivo pessoal.

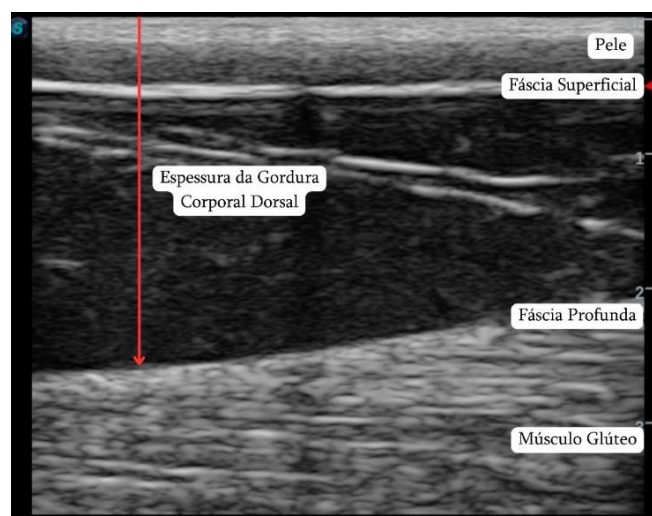


FIGURA 4 – Imagem ultrassonográfica que demonstra a espessura da gordura corporal dorsal. A seta marca o local de medição para a EGCD.

Fonte: Arquivo pessoal.

Mensuração Ultrassonográfica da Espessura do Coxim Digital e Sola

Os animais foram contidos em um tronco de casqueamento de bovinos, mantidos em posição quadrupedal e o

membro pélvico a ser avaliado foi contido com uma cinta de couro na região do metatarso e estendido caudalmente.

Para a avaliação ultrassonográfica visando a medição da espessura do coxim digital e da sola utilizou-se um aparelho de ultrassom portátil da marca Sonoscape® com um transdutor linear da mesma marca em uma frequência de 6,0 a 7,0 MHz, o acoplamento da probe no casco foi realizada com gel condutor de ultrassom.

A medida ultrassonográfica da espessura do coxim digital (ECD) foi realizada em um ponto definido (aspecto caudal da terceira falange) conforme descrito por Kofler et al. (1999) (Figura 5).



FIGURA 5 – Local para a mensuração ultrassonográfica do coxim digital e da sola.
Fonte: Arquivo pessoal.

A determinação da ECD foi realizada no ponto que é considerado o local típico de úlcera de sola no aspecto plantar-axial da superfície da sola. A medida foi realizada entre a margem interna da sola até a borda distal do osso no tubérculo flexor da terceira falange, correspondendo à espessura do coxim digital.

A medição da espessura da sola foi realizada no mesmo ponto e perpendicular à mensuração de ECD, sendo da superfície da sola até a borda externa do coxim digital (Figura 6). As medições foram realizadas nos quatro dígitos dos membros pélvicos.

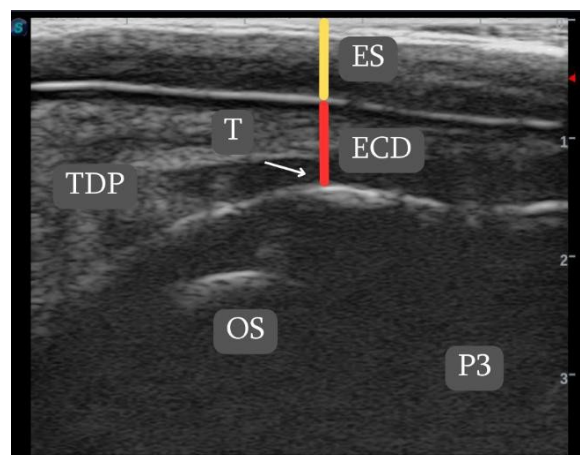


FIGURA 6 – Local de medição da espessura do coxim digital (linha vermelha) e da espessura da sola (linha amarela). T – Tubérculo da terceira falange; OS – Osso sesamóide distal; P3 – Terceira falange; ES – Espessura da sola; TDP – Tendão flexor digital profundo.

Fonte: Arquivo pessoal.

Análise Estatística

Para análise estatística, foi utilizado o software R (R Core Team, 2019). As análises estatísticas foram realizadas utilizando análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparar as médias dos diferentes tratamentos nos mesmos animais em diferentes estágios da lactação.

O nível de probabilidade considerado será 0,05. O teste de Shapiro-

Wilk foi utilizado para atestar a normalidade dos dados, e em caso se um resultado $<0,05$ foi realizado o teste de Friedman.

Resultados

Na avaliação da produção média mensal de leite (Tabela 1) houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos 30 (17,06 L) e 60 dias pós-parto (20,65 L).

TABELA 1 – Resultados encontrados nos quatro momentos de avaliação para valores de produção média diária de leite.

TRATAMENTO						
VARIÁVEL	30PRE	7POS	30POS	60POS	90POS	P-Valor ¹
LEITE (kg)		17,06 ^b	17,06 ^b	20,65 ^a	19,25 ^{ab}	0,00

1 – Valor de P no Teste de Friedman; LEITE – Produção média diária de leite.

Na EGCD (Tabela 2) ocorreu redução da mensuração e com diferença significativa ($p<0,05$) entre os momentos pré-parto (1,62 cm) e 60 dias pós-parto (0,69 cm).

Na mensuração da ECD não houve diferença significativa ($p>0,05$) em todos os membros e dígitos nas avaliações antes e depois do parto (Tabela 2).

Nos valores da espessura da sola no MPEDL não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos momentos de avaliação. A espessura da sola no MPEDM teve diferença significativa ($p<0,05$) entre

os momento pré-parto (0,60 cm) e 60 dias pós-parto (0,46 cm) com uma redução quando comparado estes momentos.

Na avaliação da espessura da sola no MPDDL e MPDDM não houve diferença significativa ($p<0,05$) nos diferentes momentos

TABELA 2 –Avaliações de espessura de gordura corporal dorsal, da espessura do coxim digital e da espessura da sola

VARIÁVEL	TRATAMENTO					P-Valor ¹	CV(%) ²	P-SW ³
	30PRE	7POS	30POS	60POS	90POS			
EGCD (cm)	1,62 ^a	1,46 ^a	1,28 ^{ab}	0,69 ^b	0,85 ^{ab}	0,00	53,38	0,00
MPEDL_ECD (cm)	0,68 ^a	0,66 ^a	0,66 ^a	0,60 ^a	0,67 ^a	0,38	14,64	0,10
MPEDM_ECD (cm)	0,54 ^a	0,58 ^a	0,59 ^a	0,55 ^a	0,58 ^a	0,43	13,30	0,59
MPDDL_ECD (cm)	0,67 ^{ab}	0,64 ^b	0,68 ^{ab}	0,66 ^{ab}	0,75 ^a	0,02	10,63	0,00
MPDDM_ECD (cm)	0,54 ^a	0,54 ^a	0,55 ^a	0,52 ^a	0,59 ^a	0,33	13,38	0,24
MPEDL_SOLA (cm)	0,56 ^a	0,63 ^a	0,67 ^a	0,59 ^a	0,53 ^a	0,04	19,10	0,12
MPEDM_SOLA (cm)	0,60 ^a	0,55 ^{ab}	0,56 ^{ab}	0,46 ^b	0,46 ^{ab}	0,02	20,21	0,36
MPDDL_SOLA (cm)	0,55 ^a	0,65 ^a	0,62 ^a	0,57 ^a	0,60 ^a	0,14	18,18	0,35
MPDDM_SOLA (cm)	0,60 ^a	0,60 ^a	0,60 ^a	0,49 ^a	0,49 ^a	0,03	19,26	0,00

¹Valor de F do teste de ANOVA 2- Coeficiente de variação 3- Shapiro-Wilk: Teste para verificar a normalidade dos dados, quando $p < 0,05$ aplicou-se o teste de Friedman. MPEDL – Dígito lateral do membro pélvico esquerdo.

MPEDM – Dígito medial do membro pélvico direito. MPDDM – Dígito medial do membro pélvico direito. MPDDL – Dígito lateral do membro pélvico direito. ECD – Espessura do coxim digital. SOLA – Mensuração da espessura da sola. EGCD – Espessura da gordura corporal dorsal. Letras iguais da mesma linha significam que não tem diferença estatística ($p > 0,05$) entre os momentos avaliados

As análises da produção média diária de leite nos animais investigados não revelaram diferenças significativas entre os períodos de avaliação. No entanto, quando contrastadas com os resultados de estudos semelhantes, a produção observada é considerada abaixo da média. Por exemplo, BICALHO et al. (2009) reportaram uma média diária de produção de leite de 45 L, enquanto NEWSOME et al. (2017) obtiveram 30 L e FABBRI et al. (2020) registraram 32,78 L.

Em contraste, os animais avaliados

neste estudo atingiram uma média de 20,65 L durante o pico de lactação (60 dias pós-parto).

A espessura de gordura corporal dorsal (EGCD) diminuiu de 1,62 cm (30 dias antes do parto) para 0,69 cm (60 dias pós-parto). Resultados semelhantes foram observados por GENTIL et al. (2017) em um estudo comparativo com vacas mestiças leiteiras (Holandês X Zebu), que também identificaram uma diminuição na EGCD de 0,9 cm (30 dias antes do parto) para 0,58 cm (60 dias pós-parto).

Na avaliação da espessura do coxim digital (ECD) no membro pélvico esquerdo, os valores do dígito lateral e medial não exibiram diferenças significativas ($p>0,05$). Entretanto, observou-se que os dígitos laterais apresentaram valores de ECD superiores aos mediais, independentemente de ser o membro pélvico direito ou esquerdo.

VAN DER TOL et al. (2002) descreveram que os dígitos laterais dos bovinos sofrem maior carga durante a locomoção, o que aumenta o risco de lesões. Portanto, maiores valores de ECD nos dígitos laterais podem indicar uma menor incidência de lesões no estojo córneo, visto que a prevalência das LREC é associada a espessuras de coxim digital por autores como BICALHO et al. (2009) e NEWSOME et al. (2017).

A espessura do coxim digital do membro pélvico direito lateral (MPDDL) apresentou uma diferença significativa ($p<0,05$) entre os períodos de 7 dias pós-parto e 90 dias pós-parto, com um aumento de 10%. Acredita-se que após o pico de produção leiteira, os animais tenham recuperado sua condição corporal (como indicado pelo aumento na espessura do tecido adiposo subcutâneo de 0,69 cm para 0,85 cm entre 60 e 90 dias pós-parto), o que provavelmente contribuiu para o aumento do coxim digital (de 0,64 cm para 0,75 cm entre 7 e 90 dias pós-parto).

BICALHO et al. (2009) investigaram

a associação positiva entre a condição corporal de vacas leiteiras e a espessura do coxim digital (ECD), enquanto NEWSOME et al. (2017) demonstraram uma correlação positiva entre a ECD e a EGCD medida por ultrassonografia. No entanto, é importante notar que a ECD pode ser influenciada por fatores como o parto e os estágios da lactação.

TOHOLJ et al. (2014) relataram valores de ECD de 0,43 cm aos 30 dias de lactação, enquanto NEWSOME et al. (2017) encontraram valores de 0,48 cm aos 60 dias de lactação. Ambos os estudos não realizaram diferenciação entre dígitos e membros e apresentaram valores inferiores (0,60 cm aos 30 dias pós-parto e 0,66 cm aos 60 dias pós-parto) aos observados no presente estudo.

Os valores esperados de espessura de sola descritos na literatura são de aproximadamente 0,7 cm, visto que esses valores são uma função do crescimento da sola pelo seu desgaste (VAN AMSTEL et al., 2003; VAN AMSTEL et al., 2004 e TSUKA et al., 2019). O crescimento da sola quanto o seu desgaste é afetado por diversos fatores, como, idade, alimentação, período do ano, ambiente em que o animal vive, bem-estar animal, qualidade e umidade do casco (VAN AMSTEL et al., 2004).

Os valores encontrados de espessura de sola são considerados menores aos indicados para uma

espessura efetiva na proteção do casco, o que pode ser um fator considerável no surgimento de lesões de ruptura de estojo córneo. Solas com espessura menor que 0,5 cm são consideradas solas finas que podem levar a abrasão do cório. (KOFLER et al., 1999; VAN AMSTEL et al., 2003; VAN AMSTEL et al., 2004 e TSUKA et al., 2019)

O estudo foi conduzido durante o período de novembro de 2022 a julho de 2023, abrangendo a estação chuvosa no estado de Goiás. O mês de janeiro registrou a maior precipitação neste verão, com 322,1 mm de chuva, equivalente a 43% da média para a estação. Em fevereiro de 2023, foi observado o maior volume de chuva em um único dia, com 80,1 mm registrado em 22/02 (INMET, 2023).

O aumento da umidade ambiental devido às chuvas durante o período experimental pode ter contribuído para o aumento da umidade no casco dos animais, resultando em um aumento na taxa de desgaste da sola. Isso pode ter levado a uma redução na espessura da sola e a um aumento na flexibilidade do casco, potencialmente aumentando o risco de lesões (VAN AMSTEL et al., 2004).

BACH et al. (2019) aferiram a espessura da sola (0,88 cm) em vacas da raça Holandesa por ultrassonografia. KOFLER et al. (1999) mostraram em sua pesquisa com vacas da raça Holandesa

valores de 0,68 cm de espessura de sola medidas perpendicularmente ao tubérculo flexor da terceira falange. Ambas as pesquisas relataram valores maiores do que a pesquisa atual. Não foi encontrado pesquisas comparando a espessura da sola através de ultrassonografia com múltiplas avaliações no decorrer da lactação.

Nos animais avaliados não houve a diminuição esperada na espessura do coxim digital, visto que os animais não entraram em balanço energético negativo devido a baixa produção de leite. Entretanto, a mensuração da espessura da sola mostrou resultados condizentes com o desgaste que os animais enfrentam no ambiente, devido a superfície irregular que os animais caminham e a alta precipitação de chuva na época, resultando em animais com a sola fina.

Considerações Finais

Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações em vacas leiteiras durante o período pré-parto e o início da lactação, com ênfase nos efeitos do balanço energético negativo sobre a condição corporal, a espessura do coxim digital e da sola dos cascos.

Embora o pico de produção de leite tenha ocorrido aos 60 dias de lactação (20,65 L), esse valor é considerado reduzido em comparação com dados da

literatura, sugerindo uma menor exigência metabólica e, consequentemente, ausência de um balanço energético negativo significativo. Essa hipótese é corroborada pela ausência de redução expressiva na espessura do coxim digital ao longo do período avaliado.

A espessura da gordura corporal dorsal apresentou redução significativa ($p < 0,05$) entre 30 dias antes do parto (1,62 cm) e 60 dias após o parto (0,69 cm), indicando mobilização moderada das reservas energéticas. A espessura da sola dos cascos variou de forma significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes membros e momentos da lactação. Foram observadas reduções especialmente nos membros pélvicos, com padrões distintos entre as regiões medial e lateral.

Não foram identificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos parâmetros ultrassonográficos entre os momentos de 7 e 30 dias pós-parto, nem entre 30 dias antes do parto e 7 dias pós-parto. Por outro lado, a redução da espessura da sola foi compatível com os efeitos do desgaste ambiental, possivelmente influenciada pela topografia irregular do solo e pela elevada precipitação pluviométrica registrada no período, fatores que contribuem para o afinamento da sola.

Os resultados indicam que, nas condições avaliadas, as alterações observadas na espessura da sola refletem

predominantemente fatores ambientais, enquanto os parâmetros corporais e do coxim digital sugerem ausência de desafios metabólicos intensos relacionados ao início da lactação.

Referências

1. AYRES, Henderson et al. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. *Livestock Science*, v. 123, n. 2-3, p. 175-179, 2009.
2. BACH, K. et al. Ultrasonographical examination of bovine claws through the sole horn on weight-bearing claws. *Journal of dairy science*, v. 102, n. 5, p. 4364-4375, 2019.
3. BACH, K.; NIELSEN, S. S.; CAPION, N. Changes in the soft-tissue thickness of the claw sole in Holstein heifers around calving. *Journal of Dairy Science*, v. 104, n. 4, p. 4837-4846, 2021.
4. BAIRD, L. G. et al. Lipid content and fatty acid composition of the digital cushion of bulls offered different amounts of linseed. *Journal of animal science*, v. 88, n. 7, p. 2403-2409, 2010.
5. BARDEN, Matthew et al. Genetic parameters and genome-wide association study of digital cushion thickness in Holstein cows. *Journal*

- of Dairy Science, v. 105, n. 10, p. 8237-8256, 2022.
6. BELL, Matt J. et al. Comparison of methods for monitoring the body condition of dairy cows. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 2, p. 80, 2018.
7. BICALHO, R. C. et al. Association between a visual and an automated locomotion score in lactating Holstein cows. *Journal of dairy science*, v. 90, n. 7, p. 3294-3300, 2007. BICALHO, R. C.; WARNICK, L. D.; GUARD, C. L. Strategies to analyze milk losses caused by diseases with potential incidence throughout the lactation: A lameness example. *Journal of dairy science*, v. 91, n. 7, p. 2653-2661, 2008.
8. BICALHO, Rodrigo C.; MACHADO, V. S.; CAIXETA, L. S. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion. *Journal of dairy science*, v. 92, n. 7, p. 3175-3184, 2009.
9. BICALHO, Rodrigo Carvalho; OIKONOMOU, Georgios. Control and prevention of lameness associated with claw lesions in dairy cows. *Livestock Science*, v. 156, n. 1- 3, p. 96-105, 2013.
10. BLOND, Laurent; BUCZINSKI, Sébastien. Basis of ultrasound imaging and the main artifacts in bovine medicine. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v. 25, n. 3, p. 553-565, 2009.
11. BONFATTI, V. et al. Prediction of blood β -hydroxybutyrate content and occurrence of hyperketonemia in early-lactation, pasture-grazed dairy cows using milk infrared spectra. *Journal of dairy science*, v. 102, n. 7, p. 6466-6476, 2019.
12. BORGES, Laura C. et al. Morphoquantitative description of bovine digital cushion. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, p. 671-676, 2015.
13. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. *Projeções do agronegócio Brasil 2014/15 a 2024/25: projeções de longo prazo*. Brasília/DF: MAPA. 2015.
14. COSTA, Joao HC et al. Prevalence of lameness and leg lesions of lactating dairy cows housed in southern Brazil: Effects of housing systems. *Journal of Dairy Science*, v. 101, n. 3, p. 2395-2405, 2018.
15. DANSCHER, A. M. et al. Oligofructose overload induces lameness in cattle. *Journal of dairy science*, v. 92, n. 2, p. 607-616,

- 2009.
16. DE CARVALHO, Bruno Campos et al. Tópicos avançados em reprodução de bovinos leiteiros. Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite, 2015.
17. DOMEcq, J. J. et al. Validation of body condition scores with ultrasound measurements of subcutaneous fat of dairy cows. Journal of dairy science, v. 78, n. 10, p. 2308-2313, 1995.
18. DUFFIELD, T. F. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. Journal of dairy science, v. 92, n. 2, p. 571-580, 2009.
19. DUTTON-REGESTER, Kate J. et al. A systematic review of tests for the detection and diagnosis of foot lesions causing lameness in dairy cows. Preventive veterinary medicine, v. 149, p. 53-66, 2018.
20. EDMONSON, A. J. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. Journal of dairy science, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.
21. ENDRES, M.I. 2017. The Relationship of Cow Comfort and Flooring to Lameness Disorders in Dairy Cattle. Vet Clin North Am - Food Anim Pract.
22. 33:227–233.
- doi:10.1016/j.cvfa.2017.02.007.
23. EUSTÁQUIO FILHO, Antônio et al. Balanço energético negativo. Pubvet, v. 4, n. 11, 2010.
24. FABBRI, Giorgia et al. Ultrasonographic alterations of bovine claws sole soft tissues associated with claw horn disruption lesions, body condition score and locomotion score in Holstein dairy cows. Research in veterinary science, v. 131, p. 146-152, 2020.
25. FERGUSON, J. et al. Body Condition of Lactating Cows, Part 1. AGRIPRACTICE- SANTA BARBARA-, v. 15, p. 17-17, 1994.
26. FERNANDES, A. F. A.; OLIVEIRA, J. A.; QUEIROZ, S. A. Escore de condição corporal em ruminantes. Ars Veterinaria, v. 32, n. 1, p. 55-66, 2016.
27. Food and Agriculture Organization of the United States Nations – FAO. Dairy production and products: milk production. Rome: FAO. 2020.
28. GARBARINO, Eduardo Jose et al. Effect of lameness on ovarian activity in postpartum Holstein cows. Journal of dairy science, v. 87, n. 12, p. 4123-4131, 2004.
29. GARGANO, Ronaldo Gomes. Avaliação da metodologia

- holandesa de apara dos cascos para bovinos da raça Nelore e fatores de influência na morfometria dos dígitos. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
30. GARVEY, Mary. Lameness in dairy cow herds: disease aetiology, prevention and management. Dairy, v. 3, n. 1, p. 199-210, 2022.
31. GENTIL, Narjara Rodrigues et al. Validação por ultrassonografia da condição corporal em vacas mestiças Holandês x Zebu durante o período de transição e fase inicial de lactação. Semina: Ciências Agrárias, v. 38, n. 6, p. 3797-3806, 2017.
32. GONZÁLEZ, Félix HD et al. A vaca leiteira do século 21: lições de metabolismo e nutrição. Porto alegre: universidade federal do rio grande do sul, 2021.
33. GONZÁLEZ, Félix HD. Indicadores de bioquímica sanguínea em transtornos metabólicos de ruminantes. Revista Brasileira de Buiatria - Exames Complementares, Volume 4, Número 4, 2021.
34. GREENOUGH, Paul R. Bovine laminitis and lameness: a hands on approach. Elsevier Health Sciences, 2007.
35. HASSEN, A. et al. Evaluation of ultrasound measurements of fat thickness and longissimus muscle area in feedlot cattle: Assessment of accuracy and repeatability. Canadian Journal of Animal Science, v. 78, n. 3, p. 277-285, 1998.
36. HERNANDEZ, Jorge A. et al. Comparison of the calving-to-conception interval in dairy cows with different degrees of lameness during the prebreeding postpartum period. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 227, n. 8, p. 1284-1291, 2005.
37. HOBLET, Kent H.; WEISS, William. Metabolic hoof horn disease claw horn disruption. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v. 17, n. 1, p. 111-127, 2001.
38. HUSSEIN, H. A.; WESTPHAL, A.; STAUFENBIEL, R. Relationship between body condition score and ultrasound measurement of backfat thickness in multiparous Holstein dairy cows at different production phases. Australian veterinary journal, v. 91, n. 5, p. 185-189, 2013.
39. Instituto Nacional de Meteorologia – INMET [Internet]. [acesso em 24 de julho de 2023]. Disponível em:

- https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/Balan%C3%A7o-VER%C3%83O-goiania_acs3.pdf
40. KÖCK A, KOFLER J, LEMMENS L, SUNTINGER M, GEHRINGER M, AUER FJ, LINKE K, RIEGLER B, WINCKLER C, BERGER G, EGGER-DANNER C. Hind feet position score: A novel trait to genetically reduce lameness incidence. JDS Commun. 2023 Oct 6;5(1):38-41. doi: 10.3168/jdsc.2023-0414. PMID: 38223376; PMCID: PMC10785266.
 41. KOFLER, J.; KÜBBER, P.; HENNINGER, W. Ultrasonographic imaging and thickness measurement of the sole horn and the underlying soft tissue layer in bovine claws. The Veterinary Journal, v. 157, n. 3, p. 322-331, 1999.
 42. KOFLER, Johann. Ultrasonography as a diagnostic aid in bovine musculoskeletal disorders. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v. 25, n. 3, p. 687-731, 2009.
 43. Lameness Dairy Australia [Internet]. [acesso 04 jun 2023]. Disponível em: [https://www.dairyaustralia.com.au/western-dairy/animal-](https://www.dairyaustralia.com.au/western-dairy/animal-managementand-milk-quality/animal-health/lameness#.YVoWLJrMLIV)
 44. LISCHER, Ch J. et al. Suspensory structures and supporting tissues of the third phalanx of cows and their relevance to the development of typical sole ulcers (Rusterholz ulcers). Veterinary Record, v. 151, n. 23, p. 694-698, 2002.
 45. MACHADO, Rui et al. Escore de condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. 2008.
 46. MACHADO, V. S. et al. The effect of claw horn disruption lesions and body condition score at dry-off on survivability, reproductive performance, and milk production in the subsequent lactation. Journal of dairy science, v. 93, n. 9, p. 4071-4078, 2010.
 47. MAHMMOD, Y.; REFAAI, W. Bovine lameness and digital dermatitis in dairy cows: updates on control and diagnostics approaches. Microbiol Curr Res. 2017; 1 (1): e101-2. e102 Microbiol Curr Res. 2017 Volume 1 Issue, v. 1.
 48. MANENTTI, Laura; MONTEBELLO, Adriana Estela Sanjuan; MARJOTTA-MAISTRO, Marta Cristina. COMPLEXO

- AGROINDUSTRIAL DO LEITE NO BRASIL: ASPECTOS ECONÔMICOS, AVANÇOS TECNOLÓGICOS E POLÍTICAS PÚBLICAS—1998 A 2018. REVISTA FOCO, v. 16, n. 3, p. e1228-e1228, 2023.
49. MARTENS, Holger. Invited Review: Increasing Milk Yield and Negative Energy Balance: A Gordian Knot for Dairy Cows?. *Animals*, v. 13, n. 19, p. 3097, 2023.
 50. MÜLLING, Ch KW. Theories on the pathogenesis of white line disease—an anatomical perspective. In: *Proceedings of the 12th International Symposium on Lameness in Ruminants*, Orlando, Florida. 2002. p. 90-98.
 51. NEWSOME, R. F. et al. Morphology, adipocyte size, and fatty acid analysis of dairy cattle digital cushions, and the effect of body condition score and age. *Journal of Dairy Science*, v. 104, n. 5, p. 6238-6252, 2021.
 52. NEWSOME, Reuben F. et al. A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness. Part 1: Associations with body condition, lesion incidence, and proximity to calving. *Journal of Dairy Science*, v. 100, n. 6, p. 4745-4758, 2017.
 53. NEWSOME, Reuben F. et al. A prospective cohort study of digital cushion and corium thickness. Part 2: Does thinning of the digital cushion and corium lead to lameness and claw horn disruption lesions?. *Journal of Dairy Science*, v. 100, n. 6, p. 4759-4771, 2017.
 54. OIKONOMOU, G. et al. Association of digital cushion thickness with sole temperature measured with the use of infrared thermography. *Journal of dairy science*, v. 97, n. 7, p. 4208-4215, 2014.
 55. OIKONOMOU, Georgios et al. Genetic characterization of digital cushion thickness. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 1, p. 532-536, 2014.
 56. OSSENT, Pete; LISCHER, Christoph. Bovine laminitis: the lesions and their pathogenesis. In *practice*, v. 20, n. 8, p. 415-427, 1998.
 57. PAUL, Abhishek et al. Body condition scoring in dairy cows—a conceptual and systematic review. *Indian journal of animal research*, v. 54, n. 8, p. 929-935, 2020.
 58. RÄBER, Marta et al. The bovine digital cushion—a descriptive anatomical study. *The veterinary*

- journal, v. 167, n. 3, p. 258-264, 2004.
59. ROCHE, S. M. et al. INVITED REVIEW: Prevalence, risk factors, treatment, and barriers to best practice adoption for lameness and injuries in dairy cattle: A narrative review. *Journal of Dairy Science*, 2023.
60. SCHRÖDER, U. J.; STAUFENBIEL, R. Invited review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *Journal of dairy science*, v. 89, n. 1, p. 1-14, 2006.
61. SHEARER, Jan K.; PLUMMER, Paul J.; SCHLEINING, Jennifer A. Perspectives on the treatment of claw lesions in cattle. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, p. 273- 292, 2015.
62. SINGH, Randhir; RANDHAWA, S. N. S.; RANDHAWA, C. S. Body condition score and its correlation with ultrasonographic back fat thickness in transition crossbred cows. *Veterinary World*, v. 8, n. 3, p. 290, 2015.
63. SOUSA, Rejane dos Santos et al. Characterization of oligofructose-induced acute rumen lactic acidosis and the appearance of laminitis in zebu cattle. *Animals*, v. 10, n. 3, p. 429, 2020.
64. SOUSA, Rejane dos Santos et al. Evaluation of infrared thermography, force platform and filmed locomotion score as non-invasive diagnostic methods for acute laminitis in zebu cattle. *Plos one*, v. 15, n. 7, p. e0235549, 2020.
65. SPRECHER, DJ et al; HOSTETLER, Douglas E.; KANEENE, J. B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology*, v. 47, n. 6, p. 1179-1187, 1997.
66. STAMBUK, C. R. et al. Phenotypic characterization and genome-wide association studies of digital cushion thickness in Holstein cows. *Journal of dairy science*, v. 103, n. 4, p. 3289-3303, 2020.
67. STAUFENBIEL, R. Konditionsbeurteilung von Milchkühen mit Hilfe der sonographischen Rückenfettdickenmessung. *Prakt. Tierarzt coll. vet*, v. 27, p. 87-92, 1997.
68. TOHOLJ, Bojan et al. Evaluation of ultrasonography for measuring solar soft tissue thickness as a predictor of sole ulcer formation in

- Holstein–Friesian dairy cows. The Veterinary Journal, v. 199, n. 2, p. 290-294, 2014.
69. TOHOLJ, Bojan et al. Evaluation of ultrasonography for measuring solar soft tissue thickness as a predictor of sole ulcer formation in Holstein–Friesian dairy cows. The Veterinary Journal, v. 199, n. 2, p. 290-294, 2014.
70. TSUKA, T. et al. Reliability of ultrasonographic measurements of bovine sole structures in relation to sole horn thickness, measured by computed tomography, and sole horn hardness. Journal of dairy science, v. 102, n. 11, p. 10105-10118, 2019.
71. VAN AMSTEL, S. R.; SHEARER, J. K.; PALIN, F. L. Moisture content, thickness, and lesions of sole horn associated with thin soles in dairy cattle. Journal of dairy science, v. 87, n. 3, p. 757-763, 2004.
72. VAN AMSTEL, Sarel R. et al. Ultrasound measurement of sole horn thickness in trimmed claws of dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 223, n. 4, p. 492-494, 2003.
73. VAN DER TOL, P. P. J. et al. The pressure distribution under the bovine claw during square standing on a flat substrate. Journal of dairy science, v. 85, n. 6, p. 1476-1481, 2002.
74. WEBER, C. et al. Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. Journal of dairy science, v. 96, n. 1, p. 165-180, 2013.
75. WILSON, James Patrick et al. A history of lameness and low body condition score is associated with reduced digital cushion volume, measured by magnetic resonance imaging, in dairy cattle. Journal of Dairy Science, v. 104, n. 6, p. 7026-7038, 2021.
-

38.- Ciencias de la Vida, Atención primaria de la salud

**Patrones de Multimorbilidad en Personas Mayores Nonagenarias y Cuidadores
Familiares en el Contexto de la Atención Primaria de Salud**

Autor: Maciel, Ingridy; E-mail: ingriidymaciel@discente.ufg.br

Co-autor: Pereira, Cristina; E-mail: cristinacamargo@discente.ufg.br

Orientadora: Pagotto, Valéria; E-mail: valeriapagotto@ufg.br

Universidad Federal de Goiás / Facultad de Enfermería

Resumen

Objetivo: Estimar la prevalencia de multimorbilidad en personas mayores de 90 años o más y en sus cuidadores, así como identificar los patrones de condiciones crónicas más frecuentes. **Metodología:** Estudio transversal realizado en Goiânia con adultos mayores $\geq$ 90 años registrados en la Atención Primaria de Salud (APS) y sus cuidadores familiares. La recolección de datos se llevó a cabo entre noviembre de 2024 y agosto de 2025 mediante entrevistas domiciliarias con cuestionarios estandarizados aplicados a través de la plataforma REDCap. La multimorbilidad se definió como $\geq$ 2 condiciones crónicas autorreferidas; el análisis se efectuó en el software Stata SE 15.0. **Resultados:** Se evaluaron 180 mayores, en su mayoría mujeres (60,0%), blancos (45,0%), de 90-94 años (79,3%), viudas (65,5%) y con baja escolaridad (90,4%). Entre los 167 cuidadores predominaron mujeres (84,4%), de 60-79 años (56,6%), pardos (54,3%), casados o en unión estable (50,0%), con secundaria completa o educación superior incompleta (35,8%) y, en su mayoría (75,8%), convivían con el mayor. La prevalencia de multimorbilidad fue 73,3% en mayores y 66,5% en cuidadores. Los pares más frecuentes en los mayores fueron hipertensión/problema de columna (25,0%) e hipertensión/osteoporosis (23,9%). En cuidadores, colesterol alto/problema de columna (28,1%) e hipertensión/problema de columna (23,9%). La multimorbilidad fue significativamente prevalente en ambos grupos, destacándose ciertos pares de condiciones crónicas. Los hallazgos refuerzan la relevancia de la APS en la implementación de estrategias de cuidado centradas en la díada mayor-cuidador.

Palabras clave: Multimorbilidad, Anciano, Cuidadores.

Introducción

El aumento de la esperanza de vida y la transición demográfica son fenómenos globales, con un crecimiento progresivo de la población de personas mayores. Aunque representa una proporción reducida de la población total, dentro de este grupo existe un incremento de las llamadas “personas de edad muy avanzada”, categoría que abarca a quienes tienen 90 años o más (United Nations, 2019).

A nivel mundial, se estima que 143 millones de personas se encuentran en edad avanzada (United Nations, 2019). En Brasil, datos del Instituto Brasileño de Geografía y Estadística (2023) indican que el 15,6% de los brasileños son personas mayores y la población de 90 años o más corresponde al 0,29% de la población total (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE], 2023).

El aumento de la longevidad, si bien representa un avance significativo para la sociedad, también se asocia a una mayor exposición y acumulación de factores de riesgo a lo largo de la vida, los cuales pueden contribuir a la aparición de problemas de salud, especialmente enfermedades crónicas (Barnett et al., 2012).

Debido a su impacto en la vida de las personas, la ocurrencia de múltiples enfermedades ha cobrado relevancia en la literatura mundial y ha sido denominada

multimorbilidad, definida como la presencia simultánea de dos o más condiciones de salud física o mental (Chowdhury et al., 2023). Se trata de un fenómeno altamente prevalente en la población de personas mayores y fuertemente asociado a desenlaces negativos, como el deterioro funcional, el aumento de la dependencia y una peor calidad de vida (Yarnall et al., 2017; Zhao et al., 2021).

Esta condición afecta a cerca del 51% de la población mundial de personas mayores (Chowdhury, Choandra, Sunna, Beyene, & Hossain, 2023) y aproximadamente al 31% de las personas mayores brasileñas (Ministério dos Direitos Humanos e da Cidadania, 2023). A medida que la esperanza de vida aumenta, la prevalencia de la multimorbilidad progresa, convirtiéndose en un desafío para la salud pública mundial (Zhang et al., 2021).

Entre los individuos de edad muy avanzada, con 90 años o más, la multimorbilidad tiende a presentarse de forma aún más compleja, no solo por la mayor probabilidad de coexistencia de múltiples enfermedades, sino también por la interacción de estas condiciones con las fragilidades físicas, cognitivas y sociales propias de este grupo de edad (Sagawa, Noguchi-Watanabe, & Fukui, 2024). Datos de la Encuesta Nacional de Salud (PNS) de 2019 indican que, entre las personas

mayores longevas, las enfermedades crónicas más prevalentes incluyen la hipertensión arterial sistémica (61,7%), problemas crónicos de columna (30,0%), hipercolesterolemia (22,0%) y diabetes mellitus (20,3%) (Francisco et al., 2022). Estas afecciones, cuando se asocian, tienden a comprometer diferentes dominios relacionados con el bienestar y la autonomía de los individuos, sobre todo en los grupos de edad más avanzada (Samartini, Araújo, & Cândido, 2023).

La presencia de multimorbididades amplía la complejidad del cuidado, pues demanda el manejo simultáneo de diferentes regímenes terapéuticos, el seguimiento de múltiples consultas médicas y una vigilancia constante ante potenciales interacciones medicamentosas y complicaciones clínicas (Skou et al., 2022). Tal escenario puede aumentar la dependencia y la necesidad de cuidados de las personas mayores, y la figura del cuidador surge como un pilar esencial en el mantenimiento de su bienestar (Ministério da Mulher, da Família e dos Direitos Humanos, 2024).

Estudios señalan que los cuidadores familiares, denominados informales, constituyen la mayor proporción de proveedores de cuidados en el contexto del cuidado de personas mayores, especialmente en países de ingresos medios y bajos, como Brasil,

donde las redes familiares asumen gran parte de la responsabilidad del cuidado continuo (Lima-Costa et al., 2017). Esta realidad, aunque esencial para el mantenimiento de la calidad de vida de las personas mayores, puede generar una sobrecarga física, emocional y financiera en los cuidadores, frecuentemente asociada a elevados niveles de estrés, síntomas depresivos y un compromiso de la propia salud (Polenick & DePasquale, 2019; Alves, Flesch, Cachioni, Néri, & Batistoni, 2018). La labor de cuidado, sumada a las propias condiciones de salud preexistentes, potencia la aparición de nuevas enfermedades o el agravamiento de las ya establecidas (Flesch, Batistoni, Neri, & Cachioni, 2020). Así, estos factores pueden contribuir a que las multimorbididades ocurran entre los cuidadores de forma más precoz y comprometan su longevidad.

Según nuestro conocimiento, no se han encontrado estudios que analicen la ocurrencia simultánea de multimorbilidad en las personas mayores y en sus cuidadores. La evidencia disponible indica que los cuidadores también enfrentan una alta carga de enfermedades crónicas, a veces con un perfil de multimorbilidad similar al de la persona mayor (Schmaderer, Pozehl, Loecker, & Zimmerman, 2020) y, en comparación con los no cuidadores, presentan un riesgo un 16% mayor de desarrollar múltiples

condiciones de salud (Young et al., 2024). Además, la acumulación de enfermedades crónicas en la persona mayor cuidada aumenta la sobrecarga del cuidador, especialmente cuando la demencia forma parte de este cuadro (Nordin, Hairin, Choo, & Hairi, 2019).

El estudio de la multimorbilidad en personas mayores longevas y sus cuidadores es fundamental ante el aumento global de la longevidad y la prevalencia de múltiples enfermedades crónicas en este grupo de edad. Por lo tanto, la búsqueda de tal evidencia es fundamental para fundamentar la planificación de estrategias más integradas y resolutivas, capaces de contemplar tanto las demandas de las personas mayores de edad avanzada como las de sus cuidadores. Considerando que la multimorbilidad no solo afecta a la persona enferma, sino que también repercute directamente en la dinámica familiar y en la capacidad del cuidado ofrecido, comprender este proceso es crucial para el desarrollo de intervenciones más efectivas. En este ámbito, la Atención Primaria de Salud (APS) se destaca por ser la puerta de entrada a la Red de Atención a la Salud (RAS) y el principal punto de acceso de la población en estudio, posibilitando una mayor eficacia en la coordinación del cuidado, actuando en la prevención de complicaciones y promoviendo un

abordaje longitudinal de estos individuos.

Objetivos

1. General

Estimar la prevalencia de multimorbilidad en personas mayores de 90 años o más y en sus cuidadores.

2. Específicos

- Describir el perfil sociodemográfico de las personas mayores y de sus cuidadores;
- Estimar la prevalencia de multimorbilidad de las personas mayores y de sus cuidadores;
- Identificar los pares de enfermedades crónicas más prevalentes en las personas mayores y sus cuidadores;

Materiales y Métodos

Se trata de un estudio transversal, integrado en un proyecto matriz titulado "Proyecto integrado sobre la salud de personas mayores de edad avanzada, sus cuidadores familiares y las líneas de cuidado en la Atención Primaria de Salud", conocido como Proyecto Cuidar 90+.

El estudio se lleva a cabo en el municipio de Goiânia, capital del estado, ubicado en la macrorregión centro-suroeste del Estado de Goiás. Según el último censo del IBGE, la población total fue de 1.437.366 habitantes, con una densidad demográfica de 1.970,90 habitantes/km² (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

[IBGE], 2023). La población de personas mayores se estimó en 216.513, lo que corresponde al 15,06%, mientras que la de personas de 90 años o más fue de 4.648, correspondiente al 0,32%.

En el sector de la salud, el área geográfica de Goiânia se subdivide en siete distritos sanitarios: Campinas-Centro; Leste; Noroeste; Norte; Oeste; Sudoeste; y Sul (Prefeitura de Goiânia, 2019). La red de APS está compuesta por 54 Unidades Básicas de Salud (UBS) con los equipos de salud de la familia (Prefeitura de Goiânia, 2020). Se estima que la cobertura de la APS es del 59,29% y la de la Estrategia de Salud de la Familia (ESF) es del 43,69%.

La población objetivo de este estudio fueron las personas mayores de 90 años o más y sus cuidadores familiares, residentes en Goiânia y registrados en las 54 Unidades Básicas de Salud (UBS) con Estrategia de Salud de la Familia (ESF). Según información de la Secretaría de Salud del municipio en la primera estimación para el desarrollo del proyecto, en mayo de 2024, se identificaron en el Sistema de Información de la Atención Básica 1.973 personas mayores de 90 años o más registradas, las cuales fueron consideradas elegibles para el estudio.

Se consideraron como criterios de inclusión: estar registrado en una de las 54 UBS, tener 90 años o más,

independientemente del sexo; tener capacidad cognitiva para responder al cuestionario, evaluada mediante la aplicación del Mini-Examen del Estado Mental (Folstein, Folstein, & McHugh, 1975; Bertollucci, Brucki, & Campacci, 1994). En los casos de personas mayores con incapacidad cognitiva o comunicativa, un familiar responsable de 18 años o más respondió el cuestionario. Para los cuidadores, los criterios de inclusión fueron: ser el cuidador de la persona mayor incluida en el estudio, de cualquier edad, y poseer la capacidad para responder al cuestionario.

La recolección de datos comenzó en octubre de 2024 y fue realizada por entrevistadores capacitados, en visitas domiciliarias a las personas mayores previamente identificadas en las UBS. Este trabajo contempla los datos recolectados entre noviembre de 2024 y agosto de 2025.

Las entrevistas se realizaron a través de dispositivos móviles con acceso a la plataforma *Research Electronic Data Capture* (REDCap), por medio de la cual se aplicaron cuestionarios estandarizados y escalas validadas. Previamente a las entrevistas, se realizaron reuniones de sensibilización con los equipos de salud de las UBS, en las cuales se presentaron los objetivos del proyecto y se acordó la logística en el territorio.

Los entrevistadores fueron

acompañados por los Agentes Comunitarios de Salud (ACS) y, ante cualquier impedimento, estos realizaron la intermediación, comunicando a las familias sobre la recolección de datos. La etapa domiciliaria se llevó a cabo en uno o más días consecutivos, según la demanda y disponibilidad de cada participante, considerando que las investigaciones con personas mayores requieren más tiempo de entrevista. Tanto la persona mayor como su cuidador fueron entrevistados por parejas de entrevistadores diferentes, respetando el ritmo y las necesidades de cada participante en todo el proceso. El equipo siempre se presentó debidamente identificado, utilizando uniforme y credenciales con la identidad visual de la Universidade Federal de Goiás (UFG), y aplicando todas las normas de seguridad necesarias. Todos los objetivos de la investigación fueron aclarados antes de otorgar el consentimiento para participar.

La variable dependiente considerada fue la multimorbilidad, identificada a partir del recuento de enfermedades crónicas autoinformadas, con base en una lista de 18 condiciones: hipertensión arterial, diabetes, colesterol alto, infarto, angina, insuficiencia cardíaca crónica, accidente cerebrovascular, asma, enfisema o bronquitis crónica o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), artritis o reumatismo, osteoporosis, problema de columna,

depresión, problema psiquiátrico, cáncer, insuficiencia renal crónica, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer (Johnston et al., 2019). La recopilación de esta información se realizó mediante la pregunta: “¿Algún médico le ha dicho alguna vez que usted tiene...?”, considerando el relato del entrevistado sobre un diagnóstico médico previo.

La definición de multimorbilidad adoptó como criterio la presencia de ≥ 2 enfermedades crónicas (Johnston et al., 2019). Las variables independientes incluyeron: sexo; edad en años cumplidos; color de piel autoinformado, estado civil, escolaridad y si el cuidador reside en el mismo domicilio que la persona mayor.

El análisis de los datos se realizó utilizando el programa *Stata*, SE 15.0. Se realizó un análisis descriptivo de las variables. Para identificar los 10 pares de morbilidades más prevalentes, se calculó la frecuencia de ocurrencia simultánea de las enfermedades y sus respectivas prevalencias con intervalos de confianza del 95% (IC 95%).

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital de Clínicas de la Universidade Federal de Goiás (Dictamen 6.955.092). Todos los participantes firmaron un Consentimiento Informado antes del inicio de las entrevistas. Se cumplieron todos los aspectos regulatorios y legales. Se declara, además, que no existen conflictos

de intereses relacionados con el presente trabajo.

Resultados y Discusión

Entre las 180 personas mayores evaluadas, la mayoría era de sexo femenino (60,0%) y se encontraba en el rango de edad de 90 a 94 años (79,3%). En cuanto a la raza/color de piel autoinformado, predominaron los blancos (45,0%), seguidos de los mestizos (36,3%) y los negros (18,7%). La mayor parte era viuda (65,5%) y presentaba una baja escolaridad, con un 90,4% sin educación formal o con educación primaria incompleta (Tabla 1).

Estos datos son coherentes con el perfil del envejecimiento poblacional, que en general señala una mayor esperanza de vida de las mujeres en comparación con los hombres (Enroth, Halonen, Tiainen, Raitanen, & Jylhä 2023; Strozza et al., 2020). Además, estudios nacionales indican que la baja escolaridad puede ser un factor que influye en la salud y en el acceso a los servicios, contribuyendo al cuadro de multimorbilidad, ya que tal condición dificulta el conocimiento del individuo sobre formas de prevenir la acumulación de enfermedades crónicas (Bortoluzzi, Mascarelo, Portella, Silva & Alves, 2024; Melo & Lima, 2020).

En relación con los cuidadores

(n=167), se observó un predominio del sexo femenino (84,4%) y una edad entre 60 y 79 años (56,6%). Respecto a la raza/color de piel, la mayoría se declaró mestiza (54,3%), seguida de blanca (26,8%) y negra (17,7%). La mitad de los cuidadores estaba casada o vivía en unión de hecho (50,0%), mientras que el 25,0% eran solteros. En cuanto a la escolaridad, el 35,8% poseía educación secundaria completa o superior incompleta, y el 19,1% tenía educación superior completa o más. La mayoría (75,8%) residía en el mismo domicilio que la persona mayor bajo su cuidado (Tabla 1).

Ante este perfil, se evidencia la necesidad de una mirada crítica hacia la salud de estos individuos, quienes, en su mayoría, son también personas mayores y están sujetos a la acumulación de enfermedades crónicas. Tal circunstancia se ve agravada por la “doble vulnerabilidad” que la multimorbilidad y la sobrecarga imponen a los cuidadores, aumentando su susceptibilidad a la fragilidad (Alves et al., 2018). Se destaca que el predominio de mujeres en este rol enfatiza el fenómeno de la feminización del cuidado, que frecuentemente resulta en invisibilidad social y falta de apoyo para ellas (Souza, Pereira, & Silva, 2018).

Tabla 1. Características de la población de personas mayores y sus cuidadores.

Variable	n (%)
Personas mayores	
Sexo	
Masculino	72 (40,0)
Femenino	108 (60,0)
Rango de edad, años	
90-94	142(79,3)
95 años o más	37 (20,7)
Raza/Color de piel autoinformado	
Blanca	77 (45,0)
Parda	62 (36,3)
Preta	32 (18,7)
Estado civil	
Soltero(a)	10 (5,6)
Casado(a)/Conviviente/Unión de hecho	41 (23,2)
Divorciado(a) o separado(a)	10 (5,6)
Viudo(a)	116 (65,5)
Escolaridad	
Sin educación formal o educación primaria incompleta	141 (90,4)
Educación primaria completa o educación secundaria incompleta	5 (3,2)
Educación secundaria completa o educación superior incompleta	9 (5,8)
Educación superior completa o más	1 (0,6)
Cuidadores	
Sexo	
Masculino	26 (15,6)
Femenino	141 (84,4)
Rango de edad, años	
18-39	10 (6,1)
40-59	54 (32,5)
60-79	94 (56,6)
80 años ou mais	8 (4,8)
Raza/Color de piel autoinformad	
Blanca	44 (26,8)
Parda	89 (54,3)
Preta	29 (17,7)
Estado civil	
Soltero(a)	41 (25,0)
Casado(a)/Conviviente/Unión de hecho	82 (50,0)
Divorciado(a) o separado(a)	19 (11,6)
Viudo(a)	22 (13,4)
Escolaridade	
Sin educación formal o educación primaria incompleta	51 (31,5)
Educación primaria completa o educación secundaria incompleta	22 (13,6)
Educación secundaria completa o educación superior incompleta	58 (35,8)
Educación superior completa o más	31 (19,1)
Vive con la persona mayor	

No	39 (24,2)
Sí	122 (75,8)

En las personas mayores, los 10 pares más frecuentes incluyeron, en su mayoría, hipertensión (6 veces) y osteoporosis (4 veces), seguidas de problema de columna (3) y artritis/reumatismo (3). Se observó que una de cada cuatro personas mayores presentó hipertensión y problema de columna simultáneamente (25,0%) y una proporción similar tenía hipertensión asociada a osteoporosis (23,9%). Además, cerca de una de cada cinco presentaba hipertensión y artritis/reumatismo (21,1%) (Tabla 2).

En comparación, datos del Estudio Longitudinal de la Salud de los Ancianos Brasileños (ELSI-BRASIL) también encontraron una alta prevalencia de pares similares, como hipertensión y problemas de columna (23,2%), aunque el porcentaje de hipertensión asociada a artritis/reumatismo fue menor (12,3%) (Nunes et al., 2018). La prevalencia de combinaciones que involucran hipertensión y problemas osteomusculares es un hallazgo clínico relevante y puede estar asociada a factores de riesgo compartidos, como el sedentarismo, y a la demanda de un manejo clínico integrado en lugar de

tratamientos aislados (Fabbri et al., 2015; World Health Organization [WHO], 2017).

Entre los cuidadores, las combinaciones más frecuentes involucraron problema de columna (5 veces), colesterol alto (4) e hipertensión (4), además de artritis/reumatismo (3) y diabetes (3). Se observó que cerca de tres de cada diez cuidadores presentaban colesterol alto y problema de columna (28,1%) y un poco más de uno de cada cuatro tenía hipertensión asociada a problema de columna (26,9%). Asimismo, aproximadamente uno de cada cinco presentó hipertensión y colesterol alto (22,8%) (Tabla 2).

De modo general, se observa que tanto las personas mayores como los cuidadores presentan patrones similares de combinaciones de enfermedades, destacando las combinaciones musculoesqueléticas y cardiovasculares (Yogesh, Makwana, Trivedi, & Damor, 2024), lo que evidencia la necesidad de estrategias dirigidas al cuidado de la diada persona mayor-cuidador (Alves et al., 2019; Diniz, Lima, & Silva, 2017).

Un estudio estadounidense con cuidadores informales de pacientes adultos con discapacidad reveló que la realización de tareas físicamente

exigentes conduce al malestar musculoesquelético y a la aparición de lesiones (Darragh et al., 2013). Igualmente, la presencia de enfermedades metabólicas y cardiovasculares en estos individuos, muchos de ellos también

personas mayores, refuerza la necesidad de un seguimiento preventivo y terapéutico que considere la sobrecarga física y psicológica (Kao, Pace, & Amaya, 2018).

Tabla 2. Ocurrencia de los 10 pares de enfermedades crónicas más frecuentes entre personas mayores y cuidadores.

Pares de morbilidad	n (%)
Personas mayores	
Hipertensión/Problema de columna	45 (25,0)
Hipertensión/Osteoporosis	43 (23,9)
Hipertensión/Artritis o reumatismo	38 (21,1)
Artritis o reumatismo/Problema de columna	35 (19,4)
Hipertensión/Colesterol alto	32 (17,8)
Osteoporosis/Problema de columna	32 (17,8)
Artritis o reumatismo/Osteoporosis	29 (16,1)
Colesterol alto/Osteoporosis	23 (12,8)
Hipertensión/Diabetes	23 (12,8)
Hipertensión/Cáncer	23 (12,8)
Cuidadores	
Colesterol alto/Problema de columna	47 (28,1)
Hipertensión/Problema de columna	45 (26,9)
Hipertensión/Colesterol alto	38 (22,8)
Artritis o reumatismo/Problema de columna	37 (22,2)
Osteoporosis/Problema de columna	32 (19,2)
Colesterol alto/Artritis o reumatismo	27 (16,2)
Hipertensión/Artritis o reumatismo	26 (15,6)
Diabetes/Problema de columna	26 (15,6)
Hipertensión/Diabetes	26 (15,6)
Diabetes/Colesterol alto	25 (15,0)

La prevalencia de multimorbilidad fue elevada tanto entre las personas mayores como entre los cuidadores. En las personas mayores evaluadas, aproximadamente tres de cada cuatro presentaron dos o más enfermedades crónicas (73,3%) (Figura 1), un porcentaje

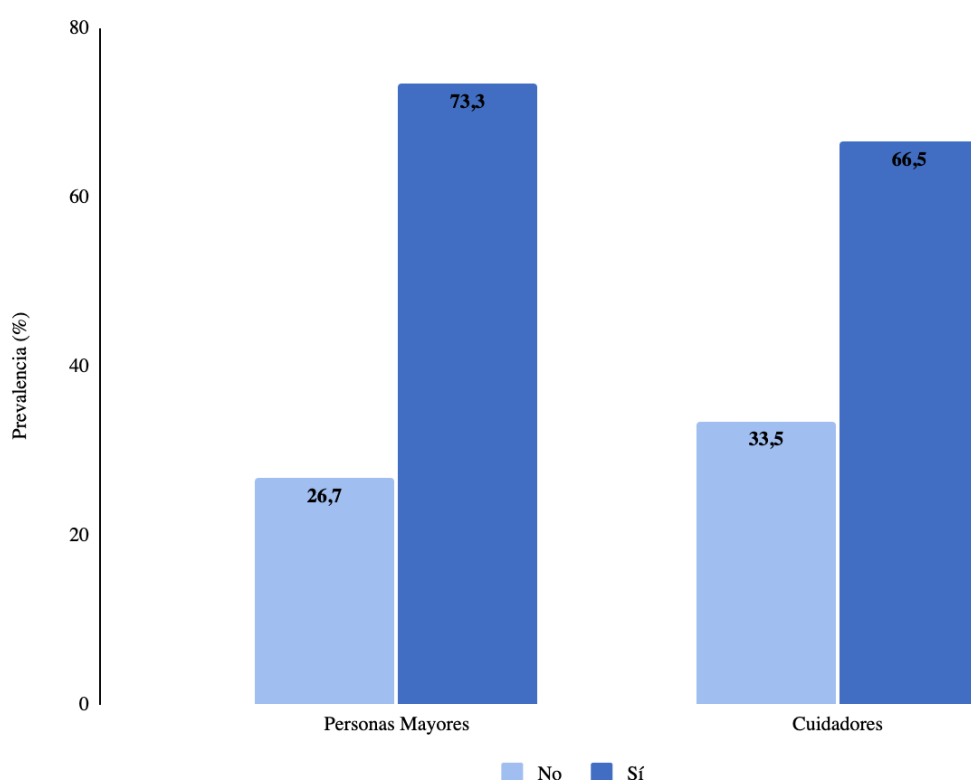
bastante mayor que el 54,7% encontrado en el estudio realizado por Halonen, Jämsen, Enroth, & Jylhä (2019) con personas mayores de 90 años o más en Finlandia. Además de presentarse como un factor de riesgo para la mortalidad en este grupo de edad (Enroth et al., 2023),

este porcentaje evidencia cómo la multimorbilidad es un desafío de salud pública, especialmente entre la población "de edad muy avanzada", donde esta condición causa un aumento en la demanda de los servicios de salud y de las discapacidades (Francisco et al., 2021).

Entre los cuidadores, esta proporción fue de cerca de dos de cada

tres (66,5%) (Figura 1). El hecho de que estos individuos presenten una alta tasa de multimorbilidad refuerza, una vez más, que el enfoque de la atención debe extenderse más allá de la persona mayor, abarcando el bienestar y la salud de quien cuida (Nordin et al., 2019).

Figura 1. Prevalencia de multimorbilidad entre personas mayores de 90 años o más y sus cuidadores.



Este estudio se realizó con usuarios de la APS, lo que hace que los resultados sean particularmente relevantes tanto para la práctica clínica como para la formulación de acciones

dirigidas a la salud pública. Por ser el primer contacto del paciente con el sistema de salud, la APS ejerce un papel central en el manejo de la multimorbilidad, actuando como un punto clave en la

atención continua e integrada (Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz], 2023). Además, es el nivel de atención responsable de la coordinación del cuidado, actuando como coordinadora de la RAS, en la prevención de complicaciones y en el seguimiento longitudinal de los individuos.

En cuanto a las limitaciones del presente estudio, es necesario considerar que se trata de una investigación de naturaleza transversal. Por lo tanto, describe la situación en un punto específico en el tiempo y no permite establecer relaciones de causa y efecto (Zangirolami-Raimundo, Eicheimberg, & Leone, 2018). La variable de multimorbilidad se basó en el recuento de enfermedades crónicas autoinformadas y puede estar sujeta a sesgos de memoria o al infrarreporte de enfermedades no diagnosticadas (Hu et al., 2024), lo que puede llevar a una subestimación de la prevalencia real de multimorbilidad en la muestra estudiada.

Por otro lado, al evidenciar la alta prevalencia de multimorbilidad en personas mayores longevas y sus cuidadores, esta investigación puede contribuir a la elaboración de estrategias de salud pública más eficaces y centradas en la mejora de la calidad de vida de la población de personas mayores y de sus cuidadores, reforzando la importancia de

la APS en el enfrentamiento de este desafío.

Conclusiones

Los resultados de este estudio proporcionan evidencia concreta de que tanto en las personas mayores como en los cuidadores existe una alta prevalencia de multimorbilidad, destacando los pares de enfermedades crónicas. La prevalencia de multimorbilidad fue del 73,3% en las personas mayores y del 66,5% en los cuidadores. En las personas mayores, los pares más comunes fueron hipertensión asociada a problema de columna y a osteoporosis. Por su parte, entre los cuidadores, los pares más frecuentes fueron colesterol elevado combinado con problema de columna e hipertensión.

Se trata de un aporte importante para comprender la realidad de la APS, y así poder dirigir la inversión de recursos, planificar acciones de salud y crear o ajustar programas de atención para ambos grupos. Destacamos en especial al grupo de cuidadores. Cerca de tres de cada diez cuidadores tenían colesterol alto y problemas de columna, lo que refuerza la necesidad de que los equipos dirijan la atención a este grupo, involucrando acciones de cribado y evaluación, un tratamiento adecuado y continuo, y basado en el vínculo.

Referencias Bibliográficas

- Alves, B. S., Oliveira, A. S. de O., Santana, E. dos S., Chaves, R. N., Marinho, M. dos S., & Reis, L. A. dos. (2019). Caracterização dos cuidadores informais de idosos dependentes quanto aos aspectos demográficos e de saúde. *Revista De Saúde Coletiva Da UEFS*, 9, 113–118.
<https://doi.org/10.13102/rscdauefs.v9i0.3684>
- Alves, E. V. d. C., Flesch, L. D., Cachioni, M., Néri, A. L., & Batistoni, S. S. T. (2018). The double vulnerability of elderly caregivers: multimorbidity and perceived burden and their associations with frailty. *Revista Brasileira De Geriatria E Gerontologia*, 21(3), 301-311.
<https://doi.org/10.1590/1981-22562018021.180050>
- Barnett, K., Mercer, S. W., Norbury, M., Watt, G., Wyke, S., & Guthrie, B. (2012). Epidemiology of multimorbidity and implications for health care, research, and medical education: a cross-sectional study. *Lancet (London, England)*, 380(9836), 37–43.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60240-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60240-2)
- Bertolucci, P. H. F., Brucki, S. M. D., & Campacci, S. (1994). O mini-exame do estado mental em uma população geral: Impacto da escolaridade. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 52(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1590/S0004-282X1994000100001>
- Bortoluzzi, E. C., Mascarelo, A., Portella, M. R., da Silva, S. G., & Sant’Anna Alves, A. L. (2024). Multimorbidity in older adults and its associated factors in 2010 and 2021. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 27, e230231.
<https://doi.org/10.1590/1981-22562024027.230231.pt>
- Brasil. Ministério dos Direitos Humanos e da Cidadania. (2022). *Documento orientador de políticas de apoio ao cuidador familiar no Brasil [PDF]*. Brasília: Autor. Recuperado de

- https://www.gov.br/mdh/pt-br/assuntos/noticias/2022/junho/DOC_orientador_Euro_Cuidados1.pdf
Brasil. Presidência da República. Ministério dos Direitos Humanos e da Cidadania. Secretaria Nacional de Promoção e Defesa dos Direitos da Pessoa Idosa. (2023, julio). *Informe em direitos humanos da pessoa idosa: Expectativa de vida saudável (Informe nº 02)*. Brasília: Autor. Recuperado de <https://www.gov.br/mdh/pt-br/navegue-por-temas/pessoa-idosa/publicacoes/informe-em-direitos-humanos-da-pessoa-idosa/informe-em-direitos-humanos-da-pessoa-idosa-no02.pdf>
- Chowdhury, S. R., Chandra Das, D., Sunna, T. C., Beyene, J., & Hossain, A. (2023). Global and regional prevalence of multimorbidity in the adult population in community settings: a systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, 57, 101860. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101860>
- Darragh, A. R., Sommerich, C. M., Lavender, S. A., Tanner, K. J., Vogel, K., & Campo, M. (2015). Musculoskeletal Discomfort, Physical Demand, and Caregiving Activities in Informal Caregivers. *Journal of applied gerontology: the official journal of the Southern Gerontological Society*, 34(6), 734–760. <https://doi.org/10.1177/0733464813496464>
- Diniz, A. S. dos S., Lima, R. de A., & Silva, B. R. S. da. (2018). Sobrecarga do Cuidador de Idoso: Uma Revisão Integrativa. *Revista de Pesquisa em Saúde*, 18(3). Recuperado de <https://periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/revistahuufma/article/view/8598>
- Enroth, L., Halonen, P., Tiainen, K., Raitanen, J., & Jylhä, M. (2023). Cohort profile: The Vitality 90+ Study-a cohort study on health and living conditions of the oldest old in

- Tampere, Finland. *BMJ open*, 13(2), e068509.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2022-068509>
- Flesch, L. D., Batistoni, S. S. T., Neri, A. L., & Cachioni, M. (2020). Elderly Who Care for Elderly: Double Vulnerability and Quality of Life. *Paidéia (Ribeirão Preto)*, 30, e3003.
<https://doi.org/10.1590/1982-4327e3003>
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). Mini-mental state: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3), 189–198.
[https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6)
- Francisco, P. M. S. B., Assumpção, D., Bacurau, A. G. M., Silva, D. S. M. D., Malta, D. C., & Borim, F. S. A. (2021). Multimorbidity and use of health services in the oldest old in Brazil. *Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology*, 24(suppl 2), e210014.
<https://doi.org/10.1590/1980-549720210014.supl.2>
- Francisco, P. M. S. B., Assumpção, D., Bacurau, A. G. M., Neri, A. L., Malta, D. C., & Borim, F. S. A. (2022). Prevalence of chronic diseases in octogenarians: data from the National Health Survey 2019. *Prevalência de doenças crônicas em octogenários: dados da Pesquisa Nacional de Saúde 2019. Ciência & saúde coletiva*, 27(7), 2655–2665.
<https://doi.org/10.1590/1413-81232022277.22482021>
- Fundação Oswaldo Cruz. (2023). *Multimorbidade: Série técnica sobre Atenção Primária mais Segura [PDF]*. Recuperado de https://proqualis.fiocruz.br/sites/proqualis.fiocruz.br/files/Multimorbidade_S%C3%A9rie%20T%C3%A9cnica%20sobre%20Aten%C3%A7%C3%A3o%20Prim%C3%A1ria%20mais%20Segura.pdf

Halonen, P., Raitanen, J., Jämsen, E.,
Enroth, L., & Jylhä, M. (2019).
Chronic conditions and
multimorbidity in population aged
90 years and over: associations
with mortality and long-term care
admission. *Age and ageing*, 48(4),
564–570.
<https://doi.org/10.1093/ageing/afz019>

Hu, X., Li, S., Wei, Z., Wu, D., Meng, L.,
Li, J., Xu, J., Zhang, L., Ma, Q., Li,
H., Zeng, X., Zhang, Q., Li, J., &
Liu, D. (2024). Prevalence and
pattern of multimorbidity in China:
a cross-sectional study of 224,142
adults over 60 years old. *Frontiers
in public health*, 12, 1349418.
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1349418>

Instituto Brasileiro de Geografia e
Estatística. (2023). *Cidades e
estados: Goiânia – GO [plataforma
online]*. Brasília, DF: Autor.
Recuperado de
<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/go/goiania.html>

Instituto Brasileiro de Geografia e
Estatística. (2023). *Panorama
Censo 2022 [plataforma online]*.
Recuperado de
<https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/>

Johnston, M. C., Crilly, M., Black, C.,
Prescott, G. J., & Mercer, S. W.
(2019). Defining and measuring
multimorbidity: a systematic review
of systematic reviews. *European
journal of public health*, 29(1),
182–189.
<https://doi.org/10.1093/eurpub/cky098>

Kao, H.-F. S., Pace, T. W. W., & Amaya,
M. A. (2018). Caregiving stress is a
risk factor for coronary heart
disease among middle-aged and
older female long-term caregivers.
Health and Primary Care, 2(5),
1–2.
<https://doi.org/10.15761/HPC.1000153>

Melo, L. A., & Lima, K. C. (2020). Factores
asociados às multimorbidades
mais frequentes em idosos

- brasileiros. *Ciência & Saúde Coletiva*, 25(10), 3879–3888.
<https://doi.org/10.1590/1413-812320202510.35632018>
- Nordin A. A., Hairi F. M., Choo W. Y., Hairi N. N. (2019). Care Recipient Multimorbidity and Health Impacts on Informal Caregivers: A Systematic Review. *The Gerontologist*, 59(5), e611–e628.
<https://doi.org/10.1093/geront/gny072>
- Nunes, B. P., Batista, S. R. R., Andrade, F. B. de, Souza Junior, P. R. B. de, Lima-Costa, M. F., & Facchini, L. A. (2019). Multimorbidade em indivíduos com 50 anos ou mais de idade: ELSI-Brazil. *Revista De Saúde Pública*, 52(Suppl 2), 10s.
<https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2018052000637>
- Polenick, C. A., & DePasquale, N. (2019). Predictors of Secondary Role Strains Among Spousal Caregivers of Older Adults With Functional Disability. *The Gerontologist*, 59(3), 486–498.
- <https://doi.org/10.1093/geront/gnx204>
- Prefeitura de Goiânia. (2019, 31 de julio). *Decreto nº 1.854, de 31 de julho de 2019: Regulamenta a área geográfica de atuação dos Agentes Comunitários de Saúde que compõem as Equipes de Saúde da Família no Município de Goiânia e dá outras providências*. Goiânia: Autor. Recuperado de https://www.goiania.go.gov.br/html/gabinete_civil/sileg/dados/legis/2019/dc_20190731_000001854.html
- Prefeitura de Goiânia. Secretaria Municipal de Saúde. (2020a). *Lista de unidades APS com endereço [PDF]*. Goiânia: Autor. Recuperado em 10 de abril de 2022, de <https://saude.goiania.go.gov.br/wp-uploads/sites/3/2020/10/LISTA-UNIDADES-APSCOM-ENDERECO.pdf>
- Sagawa, M., Noguchi-Watanabe, M., & Fukui, S. (2024). Patterns of long-term care service use and multimorbidity in older Japanese

- adults: A cross-sectional study of claim data. *Geriatrics & gerontology international*, 24(3), 283–289.
<https://doi.org/10.1111/ggi.14812>
- Samartini, R. S. ., Araujo, L. M. Q. ., & Cândido, V. C. (2023). O impacto das doenças crônicas na autonomia e autocuidado dos idosos. *Revista Recien - Revista Científica De Enfermagem*, 13(41), 561–569.
<https://doi.org/10.24276/rrecien2023.13.41.561-569>
- Schmaderer, M., Struwe, L., Pozehl, B., Loecker, C., & Zimmerman, L. (2020). Health Status and Burden in Caregivers of Patients With Multimorbidity. *Gerontology & geriatric medicine*, 6, 2333721420959228.
<https://doi.org/10.1177/2333721420959228>
- Skou, S. T., Mair, F. S., Fortin, M., Guthrie, B., Nunes, B. P., Miranda, J. J., Boyd, C. M., Pati, S., Mtenga, S., & Smith, S. M. (2022). Multimorbidity. *Nature reviews. Disease primers*, 8(1), 48.
<https://doi.org/10.1038/s41572-022-00376-4>
- Souza, I. D., Pereira, J. A., & Silva, E. M. (2018). Between State, society and family: the care of female caregivers. *Revista brasileira de enfermagem*, 71(suppl 6), 2720–2727.
<https://doi.org/10.1590/0034-7167-2018-0111>
- Strozza, C., Pasqualetti, P., Egidi, V., Loreti, C., Vannetti, F., Macchi, C., Mugello Study Working Group, & Padua, L. (2020). Health profiles and socioeconomic characteristics of nonagenarians residing in Mugello, a rural area in Tuscany (Italy). *BMC geriatrics*, 20(1), 289.
<https://doi.org/10.1186/s12877-020-01689-3>
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs. (2020). *World Population Ageing 2019 (Statistical Papers – United Nations, Ser. A, Population and Vital Statistics*

- Report*) (PDF-ISBN: 978-92-1-004554-4). Recuperado de <https://www.un-ilibrary.org/content/books/9789210045544/read>
- World Health Organization. (2017). *Integrated care for older people: Guidelines on community-level interventions to manage declines in intrinsic capacity* (ISBN: 9789241550109). Geneva: Autor. Recuperado de <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550109>
- Yarnall, A. J., Sayer, A. A., Clegg, A., Rockwood, K., Parker, S., & Hindle, J. V. (2017). New horizons in multimorbidity in older adults. *Age and ageing*, 46(6), 882–888. <https://doi.org/10.1093/ageing/afx150>
- Yogesh, M., Makwana, N., Trivedi, N., & Damor, N. (2024). Multimorbidity, health Literacy, and quality of life among older adults in an urban slum in India: a community-based cross-sectional study. *BMC public health*, 24(1), 1833. <https://doi.org/10.1186/s12889-024-19343-7>
- Young, H. M. L., Henson, J., Dempsey, P. C., Willis, S. A., Billany, R. E., Curtis, F., Gray, L., Greenwood, S., Herring, L. Y., Highton, P., Kelsey, R. J., Lock, S., March, D. S., Patel, K., Sargeant, J., Sathanapally, H., Sayer, A. A., Thomas, M., Vadaszy, N., Watson, E., ... Davies, M. (2024). Physical activity and sedentary behaviour interventions for people living with both frailty and multiple long-term conditions and their informal carers: a scoping review and stakeholder consultation. *Age and ageing*, 53(11), afae255. <https://doi.org/10.1093/ageing/afae255>
- Zangirolami-Raimundo, J., Echeimberg, J. O., & Leone, C. (2018). Tópicos de metodología de pesquisa: Estudos de corte transversal. *Journal of Human Growth and Development*, 28(3), 356–360.

<https://doi.org/10.7322/jhgd.15219>

8

Zhang, L., Sun, F., Li, Y., Tang, Z., & Ma, L. (2021). Multimorbidity in Community-Dwelling Older Adults in Beijing: Prevalence and Trends, 2004-2017. *The journal of nutrition, health & aging*, 25(1), 116–119.
<https://doi.org/10.1007/s12603-020-1467-4>

Zhao, J., Chhetri, J. K., Chang, Y., Zheng, Z., Ma, L., & Chan, P. (2021). Intrinsic Capacity vs. Multimorbidity: A Function-Centered Construct Predicts Disability Better Than a Disease-Based Approach in a Community-Dwelling Older Population Cohort. *Frontiers in medicine*, 8, 753295.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2021.753295>

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mi madre, por su apoyo incondicional; a mis abuelos, que siempre creyeron en mí; a mis amigos, por su presencia y aliento constantes; y a mi orientadora, por ser

una verdadera luz en mi trayectoria, guiándome con sabiduría e inspiración.

Financiamiento

Esta investigación ha sido financiada por el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), mediante la Convocatoria N° 21/2023 - Faixa B - Estudos Primários e Originais (Proceso: 444909/2023-0).

37.- Agroalimentos

EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE DIEZ VARIEDADES DE SOJA EN EL DISTRITO DE MINGA PORÃ DEPARTAMENTO ALTO PARANÁ

Autores: Insaurralde Vera, Leonardo; Gamarra Alfonso, Pedro Gabriel;

pedrogamarra306@gmail.com

Orientador: Aguayo Trinidad, Simeón

Universidad Nacional del Este/Facultad de Ingeniería Agronómica

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar el comportamiento agronómico de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã, Departamento Alto Paraná. El diseño experimental empleado fue de BCA con 10 tratamientos y 4 repeticiones, totalizando 40 unidades experimentales, siendo T1 (M6301 I2X), T2 (M65i65 IPRO), T3 (M57IX60 I2X), T4 (M64i61 IPRO), T5 (M5947 IPRO), T6 (M6410 IPRO), T7 (DM60i62 RR), T8 (NS5933 IPRO), T9 (DM62R63 RR), T10 (DM64IX66 I2X). Fueron evaluadas las variables peso de mil semillas, altura de la planta, número de vainas, rendimiento de la soja por $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ y costo/beneficio. En la variable peso de 1000 semillas, presentaron diferencias significativas, donde el T9, variedad DM6263 RR, obtuvo el mejor peso con un promedio de 149 gramos, siendo igual a los tratamientos T8 y T3, pero distinto a los siguientes T7, T2, T10, T1, T5, T4 y al T6 M 64i61 IPRO, este último con una media de 107 gramos, lo cual presentó el menor peso, pero es igual a los T4, T5 y T1. En la variable rendimiento, obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos, donde el T10 DM 64IX66 I2X presentó el mejor rendimiento con una media de $4377 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ siendo diferente a los demás tratamientos, T3, T1, T7, T5, T9, T2, T4, T6, y al T8 NS 5933 IPRO, siendo el T8 el que presentó media de $1314 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ con menor valor en comparación con al T10, con una diferencia entre los mismos de $3063,25 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. El costo y beneficio es muy importante en una producción para saber el margen bruto, en esta variable el T10, variedad de soja DM 64IX66 I2X, fue el que generó mayor margen bruto con un ingreso total de $13.851.572 \text{ ¢} \cdot \text{ha}^{-1}$, lo que representa una ganancia unitaria de 3.164 ¢ por cada kg. Por lo tanto, presentó diferencia significativa en cuanto al peso de mil semillas, rendimiento y valores diferenciados en cuanto el margen bruto de los tratamientos.

Palabras clave: Variedad, soja, evaluación agronómica.

Introducción

En los últimos 40 años, el cultivo de la soja se ha propagado velozmente en vastas zonas de Sudamérica. A pesar de ser un cultivo que se originó en Asia, hoy en día es un importante componente de la dieta popular tradicional en el mundo (FAO, 1992; INBIO & UGP, 2016).

La expansión del cultivo de soja en la región sudamericana provino de la demanda del mercado de soja asiático, atribuido principalmente a su uso como alimento (forraje) para el ganado vacuno (Tomasone, 2017). Esto se debió al aumento del consumo de carne vacuna en la región oriental del mundo, lo cual está directamente relacionado al aumento de las condiciones en cuanto a poder adquisitivo, es decir, el aumento de la clase media y el cambio en preferencias de consumo (Ferreira, 2017).

La soja es, principalmente, un cultivo industrial, cultivado para el aceite y la proteína. A pesar del relativamente bajo contenido de aceite de la semilla, la soja es la mayor fuente de aceite comestible y representa aproximadamente el 50% de la producción total de semillas oleaginosas del mundo (FAO, 1992).

La importancia de selección de variedades mejoradas puede jugar un papel muy

importante y debe ser un reto para la investigación, Por tales razones fue desarrollado el presente estudio, con el objetivo de evaluar comparativamente en las condiciones de las siembras de las variedades (INCA, 1997).

En Paraguay, si bien la economía se sustentó históricamente en el sector agroganadero, el sector servicios tuvo un sostenido crecimiento, y en menor escala, el sector industrial, la estructura productiva del Paraguay se mantuvo anclada en el sector primario, aumentando la expansión del área cultivada. Además, señalan que el cultivo de soja, aparece con un rol determinante en la generación de divisas, lo cual puede ser verificado a partir de un análisis de las cuentas nacionales. (Arce, Herken Krauer & Ovando 2011)

Objetivos

General: Evaluar las características agronómicas de diez variedades de soja en la ciudad de Minga Porã, Alto Paraná.

Específicos

- Determinar el rendimiento de las distintas variedades de soja.
- Comparar los componentes del rendimiento (peso de 1000 semillas, número de vainas por planta).
- Determinar la mejor altura de planta.
- Comparar costo beneficio de los tratamientos.

Materiales y Métodos

El trabajo de investigación se realizó en el campo experimental de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del este en la ciudad de Minga Porã, Alto Paraná, Ruta PY07, que se encuentra en las siguientes coordenadas: Latitud: 24°52'53.43"S, Longitud: 54°56'7.50"O.

La parcela posee un suelo con buen drenaje, arcilloso de textura fina que le caracteriza, tiene por material de origen al basalto. La precipitación media anual es de 1700mm a 1800mm mientras que el promedio anual de temperatura oscila entre los 21,6 °C (Grassi, et al. 2020). Clasificado como Rhodic Kandiodox con 56% de arcilla (López et al., 1995).

Para el análisis de suelo, fueron extraídas, 12 submuestras por cada bloque con una

profundidad de 20cm en zigzag, donde fue analizado en el laboratorio de suelos de la FIA-UNE Minga Guazú, para hacer las correcciones correspondientes.

Se realizó una rastroneada para la limpieza del terreno, luego se procedió a la medición y marcación de la parcela. Seguidamente se hizo la división de los bloques con las unidades experimentales. Cada unidad experimental tuvo 5,15cm de largo por 2m de ancho alcanzando 10,3m², con un espacio de 30cm para el caminero. El área experimental tuvo una dimensión de 23m x 25m, totalizando una superficie de 575m².

Se utilizó el diseño de bloques completos al azar (BCA) con 10 tratamientos y 4 repeticiones, sumando 40 unidades experimentales.

Tabla 1. Tratamientos evaluados en el experimento, Minga Porã departamento Alto Paraná.

Nº de tratamiento	Descripción de los tratamientos
T ₁	M 6301 I2X
T ₂	M 65 i65 IPRO
T ₃	M 57IX60 I2X
T ₄	M 64i61 IPRO
T ₅	M 5947 IPRO
T ₆	M 6410 IPRO
T ₇	DM 60i62 RR
T ₈	NS 5933 IPRO
T ₉	DM 62R63 RR
T ₁₀	DM 64IX66 I2X

El experimento se ejecutó bajo el sistema siembra convencional, mediante remoción de suelo. Antes de la siembra se realizó el tratamiento de semillas con insecticida y fungicida, la siembra se realizó manualmente distribuyendo las semillas de forma uniforme en surcos corridos. Se utilizó un espaciamiento de 45cm entre hileras y 8cm entre plantas.

Para los cuidados culturales se tuvo en cuenta el control de malezas de hojas finas y también anchas con un control mecánico a través de carpida. Para el control de plagas como chinche, oruga, ácaro, entre otros se utilizó insecticidas sistémicos, Thiametoxan y Bifentrina según la presión que las mismas presentaron en el cultivo. Para el control de enfermedades como roya, antracnosis y mildiú, se utilizó los fungicidas sistémicos Triazol + Estrubirulina.

Las variables evaluadas fueron: Altura de planta: Para determinar la altura se tomaron 10 plantas aleatoriamente de la parcela útil y con la ayuda de una cinta métrica se midieron cada una en cm, luego de eso se pasaron a una planilla de registro.

Peso de mil(1000) semillas: Se procedió a la cosecha del área útil de la unidad

experimental de la parcela. Las muestras tomadas fueron pesadas en una balanza de precisión.

Número de vainas por planta: Para determinar la cantidad de vainas por planta se tomaron 10 plantas aleatoriamente de la parcela útil y se realizó el conteo de las vainas registrando en una planilla.

Rendimiento de la Soja en kg/ha: Para determinar el rendimiento, se pesaron los granos semillas mediante una balanza electrónica de precisión y se utilizó una regla de tres simple directa para pasar los resultados en kg/ha registrado en una planilla.

Costo y Beneficio, la razón de beneficio y costo sirve para medir la capacidad que tiene la aplicación de un tratamiento alternativo. El coeficiente de variación de la relación beneficio costo se interpretó de la siguiente manera: (Terraza 1990).

$B/C > 1$ Los ingresos económicos son mayores a los gastos de producción lo que significará que será rentable.

$B/C = 1$ El ingreso económico solo cubre

$B/C < 1$ El proyecto no es rentable.

Los datos obtenidos fueron analizados a través del Análisis de Varianza y las comparaciones de medias con test de Tukey al 5%.

Resultado y discusión

En la tabla 2, se aprecia la variable altura final de planta, de acuerdo al análisis de varianza los resultados, obtuvieron una diferencia significativa entre los tratamientos, donde el T4 con la variedad de M 64i61 IPRO obtuvo un mejor desempeño con una media de 112 cm de altura de la planta de soja, comparada con los tratamientos T5, T2, T1, T9, T8, T7 y T3 con la variedad M 57IX60 I2X con una media de 76 cm de altura, presentando una altura menor al T4 y ésta igual estadísticamente a los T10 y T6.

Este resultado coincide con los resultados de Tumelero (2023) en un experimento realizado con la variedad M 64i61 IPRO, obtuvo una diferencia significativa en cuanto a la altura de la planta, donde puede

llegar a 132 cm de altura comparado por las demás variedades de soja.

Y con los autores Chipana y Calle (2017) que evaluaron las diferentes variedades de soja, donde obtuvieron una diferencia significativa en cuanto a la altura de la planta, en el que la variedad A3 obtuvo un mejor desempeño con una media de 97,70 cm. comparado con los demás tratamientos.

También coincide con los reportados por Hernández et al., (2023) en un experimento realizado con distintas variedades de soja en la ciudad de Campeche, México, estos autores obtuvieron una diferencia significativa en cuanto a la altura de las plantas, en donde la variedad H300 obtuvo una media de 84,1 cm. Siendo mejor comparada con las demás variedades.

Tabla 2. Comparación de medias de la variable altura final de planta, Minga Porã.

Tratamientos	Altura de la planta (cm)
T4: M 64i61 IPRO	112,00 a
T10: DM 64IX66 12X	108,75 a b
T6: M 6410 IPRO	102,25 a b c
T5: M 5947 IPRO	94,00 b c d
T2: M 65i65 IPRO	90,75 c d e
T1: M 6301 12X	89,00 c d e
T9: DM 62R63 RR	88,25 c d e
T8: NS 5933 IPRO	87,50 c d e
T7: DM 60i62 RR	83,50 d e
T3: M 57IX60 12X	76,00 e
CV % = 6,74	

*Significativo con 5% de probabilidad de error según el test de tukey -- Valores con alfabetos iguales no difieren entre sí.

En la tabla 3, se presenta la variable número de vainas por planta, según el

resultado de análisis de varianza ANAVA, hubo una diferencia significativa en la

mencionada variable, donde el T1, la variedad M 6301 I2X obtuvo el mejor desempeño con una media de 137 vainas por planta comparado los tratamientos, T8, T3, T7, T6, T5, y al T9 con la variedad DM 62R63 RR con una media de 59 vainas por planta, con una diferencia de 78 vainas a más al respecto al T1, pero igual a los tratamientos T4, T2 y al T10.

Este resultado fue similar lo encontrado por los autores Cortez et al., (2013) en un trabajo de investigación con diferentes variedades de soja, donde obtuvo una diferencia significativa en la variable cantidad de vainas por planta, la variedad Cu04-139 obtuvo un mejor desempeño con

una media de 76,4 vainas por planta comparado por las demás variedades.

También el investigador Romero (2013) en su trabajo de investigación con diferentes variedades de soja, también estudió comportamientos agronómicos, y obtuvo resultado con diferencia significativa en cuanto a número vainas por planta, en la que la variedad Júpiter obtuvo una media superior con 31,67 vainas por planta, comparado por los demás tratamientos.

Pero difieren con lo encontrado por Villon (2017) en un experimento realizado con diferentes variedades de soja, donde no obtuvo una diferencia significativa en cuanto a número de vainas por planta.

Tabla 3. Número de vainas por planta de la investigación, evaluación Agronómica de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã Departamento, Alto Paraná.

Tratamientos	Núm de vainas por planta
T1: M 6301 I2X	137,00 a
T4: M 64i61 IPRO	133,00 a
T2: M 65i65 IPRO	124,00 a
T10: DM 64IX66 I2X	113,50 a b
T8: NS 5933 IPRO	83,75 b c
T3: M 57IX60 I2X	81,25 c
T7: DM 60i62 RR	73,75 c
T6: M 6410 IPRO	71,50 c
T5: M 5947 IPRO	66,50 c
T9: DM 62R63 RR	59,00 c
CV % = 13,34	

Significativo con 5% de probabilidad de error según el test de tukey - Valores con alfabetos iguales no difieren entre sí.

En la tabla 4 se presentan los resultados de la variable peso de 1000 semillas, los mismos muestran diferencia significativa

en las comparaciones de medias, donde el T9, variedad DM 62R63 RRa obtuvo una mejor media con un peso de 148,75

gramos siendo diferente estadísticamente a los tratamientos, T7, T2, T10, T1, T5, y T4, pero con un comportamiento igual

estadísticamente a los T8, T3, destacando que el T4 obtuvo la media más baja con un peso de 112,50 gramos.

Tabla 4. Variable peso de 1000 semillas, evaluación Agronómica de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã Departamento, Alto Paraná.

Tratamientos	Peso de 1000 semillas (g)
T9: DM 62R63 RR	148,75 a
T8: NS 5933 IPRO	134,50 a b
T3: M 57IX60 12X	132,50 a b
T7: DM 60i62 RR	131,50 b c
T2: M 65i65 IPRO	129,50 b c
T10: DM 64IX66 12X	129,00 b c
T1: M 6301 12X	122,00 b c d
T5: M 5947 IPRO	115,25 d
T4: M 64i61 IPRO	112,50 d
T6: M 6410 IPRO	106,75 d
CV % = 5,39	

Significativo con 5% de probabilidad de error según el test de tukey -- Valores con alfabetos iguales no difieren entre sí.

Los resultados de la variable peso de mil semillas coincide con lo reportado por los investigadores Martínez y Rondanini (2023) en un experimento realizado con diferentes variedades de soja en la región de Chaco, donde obtuvieron una diferencia significativa en cuanto al peso de 1000 semillas de la soja, con la variedad SP 17088 con una media de 130 gramos comparada con las demás variedades estudiadas.

En la tabla 5, presentan los resultados con diferencia significativa entre los tratamientos, donde el T10 DM 64IX66 I2X obtuvo el mejor rendimiento con una media de 4377,25 kg ha⁻¹, siendo diferente a los demás tratamientos, T3, T1, T7, T5, T9, T2, T4, T6, y T8 NS 5933 IPRO donde este último presentó la media más baja en comparación con el T10 en kg ha⁻¹.

Tabla 5. La variable rendimiento, evaluación agronómica de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã Departamento, Alto Paraná.

Tratamientos	Rendimiento (kg ha-1)
--------------	-----------------------

T10: DM 64IX66 12X	4377,25	a
T3: M 57IX60 12X	2998,25	b
T1: M 6301 12X	2824,00	b c
T7: DM 60i62 RR	2393,25	b c d
T5: M 5947 IPRO	2309,50	b c d
T9: DM 62R63 RR	2292,25	b c d
T2: M 65i65 IPRO	2054,50	c d e
T4: M 64i61 IPRO	2047,25	c d e
T6: M 6410 IPRO	1847,50	d e
T8: NS 5933 IPRO	1314,00	e
CV % = 14,63		

Significativo con 5% de probabilidad de error según el test de tukey -- Valores con alfabetos iguales no difieren entre sí.

Este resultado coincide por Ramírez y Rondanini (2023) en un experimento realizado con diferentes variedades de soja, obtuvieron una diferencia significativa en cuanto a los tratamientos, donde la Sin embargo, difiere con lo obtenido por el grupo de investigación de Devani et al., (2016) en un experimento realizado con diferentes densidades de siembra, ellos no obtuvieron diferencia significativa en cuanto al rendimiento de las variedades de soja estudiadas.

En el cuadro 1, se presenta los resultados de la variable costo y beneficio es muy importante en una producción para saber el margen bruto del experimento, en este caso las diferentes variedades de soja. En el cuadro 1 se observa que el tratamiento que presentó mayor beneficio económico fue el T10 con la variedad de soja DM

variedad SP 1708 y NS 7209 IPRO obtuvieron un mejor desempeño con una media de 1800 kg ha⁻¹ comparado por los demás tratamientos.

64IX66 I2X que generó un ingreso total de 16.725.472 ¢ ha⁻¹, equivalente a un margen bruto de 13.851.572 ¢ ha⁻¹, es decir, que por cada inversión de 1000 guaraníes genera un margen bruto unitario de 3.164 ¢.

Por otro lado, el tratamiento 8 (variedad NS 5933 IPRO), tuvo un costo total directo de 2.866.000 ¢ ha⁻¹ teniendo en cuenta que generó un rendimiento de 1.314 kg ha⁻¹ con un ingreso total de 5.020.794 ¢ ha⁻¹, lo mismo generó un margen bruto de 2.154.794 ¢ ha⁻¹, esto quiere decir, que por cada inversión de 1000 ¢s. genera un margen bruto unitario de 1.640 ¢s.

Cuadro 1: Medias ordenadas de análisis económico, Minga Porã.

Tratamientos	Volumen de producción (kg/ha)	Precio (€/kg)	Ingreso total de Producción (€ ha)	Costo Total Directo (€ ha)	Margen Bruto Total (€ ha)	Margen Bruto Unitario (€/Un)
T1 (testigo)	2824	3821	10.790.504	2.840.009	7.950.495	2.815
T2	2054,50	3821	7.850.245	2.903.604	4.946.641	2.408
T3	2998,25	3821	11.456.313	2.889.700	8.566.613	2.857
T4	2047,25	3821	7.822.542	2.905.500	4.917.042	2.402
T5	2309,50	3821	8.824.600	2.881.800	5.942.800	2.573
T6	1847,50	3821	7.059.298	2.866.000	4.193.298	2.270
T7	2393,25	3821	9.144.608	2.850.200	6.294.408	2.630
T8	1314	3821	5.020.794	2.866.000	2.154.794	1.640
T9	2292,25	3821	8.758.687	2.866.000	5.892.687	2.571
T10	4377,25	3821	16.725.472	2.873.900	13.851.572	3.164

Conclusión

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación muestra que la evaluación agronómica de diez variedades de soja en el distrito de Minga Porã Departamento Alto Paraná, presentó diferencia significativa en las variables, altura de la planta, número de vainas por planta, peso de 1.000 semillas y rendimiento por kg.ha⁻¹.

Bibliografía

Arce, L. Herken Krauer, J. & Ovando, F. (2011). La Economía del Paraguay entre 1940-2008: Crecimiento, Convergencia Regional e Incertidumbres. Centros de análisis y difusión de la economía paraguaya

- http://209.177.156.169/libreria_cm/archivos/pdf_43.pdf
- Cortez, E. Perez, J. Rodriguez, F. Martinez, J. Cervantes, L. 2013. Rendimiento y respuesta de variedades de soja a mosca blanca Bemisia tabaci (Genn.) en tres fechas de siembra*. Mexico. Consultado el 27 de enero de 2025. Disponible en: Rendimiento y respuesta de variedades de soja a mosca blanca Bemisia tabaci (Genn.) en tres fechas de siembra.
- Devani, M. Ledesma, F. Sanchez, J. Lisi, V. Gamboa, D. Facundo, D. Ploper, L. Soule, L. Casmuz, A. 2016. Red de evaluación de cultivares de soja para el noroeste argentinos: resultados de la campaña 2015/2016. Argentina. Consultado el 25 de enero de 2025. Disponible en: EEAOOC2016_compaginado_FINAL.pdf en la producción. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/648/1/TA69.pdf>
- FAO. 1992. Organización de las Naciones Unidas. Tecnología de producción de proteína. <http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e00.htm#con>
- Ferreira, M, Rojas, L. 2017. Entrevista realizada por el equipo del proyecto INV 233 Impacto económico de la aprobación de la soja transgénica en Paraguay. Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S2076054X2018004600024&script=sci_arttext#B9 Funciones, absorción y movilidad. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/648/1/TA69.pdf>
- Hernandez, M. Soto, J. Avila, M. Gamez, F. Gamez, A. O-Olan, M. 2023. Rendimiento de variedades de soja evaluadas en diferente fecha de siembra en Campeche, México. Consultado el 27 de enero de 2025. Disponible en: Rendimiento de variedades de soja evaluadas en diferente fecha de siembra en Campeche, México
- INBIO-Instituto de Biotecnología Agrícola. 2016. Identificación de malezas, plagas y enfermedades de soja (en línea). Consultado el 25 de junio de 2023, Guía de campo. Disponible en <https://www.inbio.org.py/informes/publicaciones/Guia-de-campo-Identificacion-malezas-plagas-enfermedades-soja.pdf>
- Martinez, O. Rondanini, D. 2023. Comportamiento agronómico de líneas experimentales y variedades comerciales de soja (Glycine max, Fabaceae) en el Chaco central de Paraguay. Consultado el 26 de

enero de 2025. Disponible en: Vista de Comportamiento agronómico de líneas experimentales y variedades comerciales de soja (*Glycine max*, Fabaceae) en el Chaco central de Paraguay

Tomasone, S, Cristaldo, H. (2017). Entrevista realizada por el equipo del proyecto INV 233 Impacto económico de la aprobación de la soja transgénica en Paraguay. Universidad Nacional. de Asunción. San Lorenzo.
http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S2076-054X201800460002400018&lng=en

Tumelero, E. 2023. USO DE REGULADORES DE

CRESCIMENTO NA CULTIVAR DE SOJA BMX FIBRA. Brasil. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ. Consultado el 27 de enero de 2025. Disponible en: reguladorescrescimentosojabmx.pdf

Villon, K. 2017. COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE GENOTIPO DE SOYA (*Glycine max* L), PROVENIENTES DE LA VARIEDAD DE INIAP 307 EN MANGLARALTO PROVINCIA DE SANTA ELENA. Brasil. Consultado el 26 de enero de 2025. Disponible en: Plantilla para Trabajos Titulación

39.- Ciencias de la Vida, Salud Humana

“Relación entre el índice inflamatorio de la dieta, niveles plasmáticos de interleucina-1 β y glicemia en ayuno en adultos con riesgo cardiovascular y sin riesgo cardiovascular: estudio piloto, Chile.”

Autor: González Revuelta, Danae. E. mail: danae.gonzalez@estudiantes.uv.cl

Orientador/a: Valenzuela, Carina; E. mail: carina.valenzuela@uv.cl

Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso.

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan la principal causa de mortalidad a nivel mundial y en Chile, siendo la inflamación crónica parte de su fisiopatología a través del proceso aterosclerótico. La alimentación posee efectos en la modulación de la inflamación y en la actualidad se ha desarrollado el índice inflamatorio de la dieta (DII) el cual permite evaluar el potencial inflamatorio de la dieta mediante el análisis de 45 componentes alimentarios y su impacto sobre biomarcadores de inflamación, uno de ellos es la interleucina-1 β (IL-1 β), citocina clave en el desarrollo de procesos inflamatorios como la aterosclerosis y subyacente de la vía del inflammasoma criopirina (NLRP3). El presente estudio corresponde a un piloto observacional de corte transversal (n=24) diseñado para comparar los niveles plasmáticos de IL-1 β medida por método ELISA, glicemia capilar en ayuno y el índice inflamatorio de la dieta determinado por la cuantificación del aporte nutricional de 3 recordatorios de 24 horas y una frecuencia de consumo modificada en adultos (20-60 años) chilenos con diagnóstico de ≥ 2 factores de riesgo cardiovascular y adultos chilenos sin factores de riesgo cardiovascular diagnosticados. Los datos se analizarán con prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar normalidad, las comparaciones entre grupos se realizarán con las pruebas t-Student o Mann-Whitney y las correlaciones entre IL-1 β , glicemia y DII se determinarán con Pearson o Spearman según distribución. Se utilizará GraphPad Prism 10.0 con significancia $p < 0,05$. Se espera encontrar diferencias significativas entre los grupos con y sin riesgo cardiovascular en DII, glicemia e IL-1 β plasmática, además de correlaciones positivas entre variables.

Palabras clave: Riesgo cardiovascular, índice inflamatorio de la dieta, interleucina-1 β .

Introducción:

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen un amplio grupo de trastornos que afectan tanto los vasos sanguíneos como el corazón, incluyendo cardiopatías, eventos tromboticos, afecciones cerebrovasculares y arteriopatías periféricas, representando una de las principales causas de mortalidad y carga de enfermedad en el mundo (Di Cesare et al., 2024; Greenfield & Snowden, 2018; Roth et al., 2020). En Chile se evidencia una disminución en la tasa de mortalidad en ciertas ECV como el infarto agudo al miocardio (IAM) y accidente cerebrovascular (ACV) durante los años 2015-2021. No obstante, en el año 2022 las ECV registraron un total de 33.504 fallecimientos, posicionándose dentro de las principales causas de muerte en el país. Estas patologías representan un desafío sanitario, cuyo abordaje efectivo requiere manejo de factores de riesgo y estilos de vida (*Chile- Overview of the Distribution of Causes of Total Deaths Grouped by Category*, n.d.; Publicación, Comité, De, & Vitales, n.d.; Salud, n.d.).

En este contexto epidemiológico, el Riesgo Cardiovascular (RCV) facilita la estratificación de los usuarios en el sistema de salud pública del país, permitiendo determinar las metas terapéuticas y diseñar un plan de seguimiento. Los factores de RCV incluyen: edad, sexo, antecedente personal o familiar de ECV, diabetes, dislipidemia, tabaquismo, actividad física, obesidad, entre

otros (*Orientación Técnica Programa de Salud Cardiovascular*, 2017). La alimentación es un factor fundamental tanto para la prevención de ECV como en el desarrollo y control de diversos factores de RCV (Bays et al., 2022; Reynolds & Mann, 2022; Voglhuber, Ljubojevic-Holzer, Abdellatif, & Sedej, 2021). En la población chilena se ha evaluado la prevalencia de factores de riesgo, clasificando a los usuarios con ≥ 3 de los siguientes factores: presión arterial elevada, hipertrigliceridemia, hiperglicemia, circunferencia de cintura elevada o colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) reducido, como usuarios con fenotipo metabólicamente no saludable. Demostrando que, al presentar ciertos factores de riesgo hay mayor riesgo de eventos cardiovasculares con una prevalencia total del 36%, la cual aumenta según el diagnóstico nutricional: peso moral, sobrepeso y obesidad respectivamente (Fernández-Verdejo, Moya-Osorio, Fuentes-López, & Galgani, 2020), presentado una asociación positiva con el RCV y mortalidad, debido a las afecciones metabólicas asociadas (Dwivedi, Dubey, Cistola, & Reddy, 2020).

La inflamación crónica también conocida como metainflamación, desempeña un papel clave en los mecanismos fisiopatológicos de la génesis y progresión de la aterosclerosis, siendo este el proceso subyacente en el desarrollo de ECV (Ajooolabady et al., 2024). La aterosclerosis se origina con la disfunción

endotelial, alterando diversos mecanismos regulatorios, predisponiendo a la pared vascular a la vasoconstricción, infiltración de lípidos, adhesión de leucocitos, activación plaquetaria y aumento del Estrés Oxidativo (EO), incitando la activación de respuestas inflamatorias (Alfaddagh et al., 2020).

En condiciones fisiológicas, la inflamación restaura la homeostasis del organismo mediante cambios temporales que permiten la reparación del daño. Sin embargo, cuando esta persiste, las señales inflamatorias pueden alterar funciones biológicas, desregulando la homeostasis y pudiendo resultar en estados patológicos crónicos, explicando así la cronicidad de diversas enfermedades donde la inflamación comprende procesos patológicos (Kotas & Medzhitov, 2015). La inflamación crónica se asocia con factores del estilo de vida, incluyendo el sedentarismo, sobrepeso, obesidad, tabaquismo y patrones alimentarios (Christ & Latz, 2019).

La influencia de los patrones alimentarios en la metainflamación está determinada por su perfil inflamatorio o antiinflamatorio, donde los macronutrientes, micronutrientes y compuestos bioactivos presentes en los alimentos, poseen un rol importante en este perfil (Tristan Asensi, Napoletano, Sofi, & Dinu, 2023a).

Los alimentos con propiedades antiinflamatorias se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, fibra dietética (FD), compuestos

bioactivos y diversos micronutrientes como zinc, vitaminas C y E. Estos componentes están presentes en alimentos como pescados grasos, semillas de chía y linaza, aceite de oliva, frutos secos, frutas, verduras, legumbres, granos integrales y especias como la cúrcuma, jengibre, ajo, entre otras (Yu, Pu, & Voss, 2024).

Dentro de los compuestos bioactivos, los polifenoles combaten el exceso de radicales libres (ROS) inhibiendo el estrés oxidativo (EO) y la activación de las vías inflamatorias, además la quercetina dietética ha demostrado prevenir el deterioro oxidativo de LDL mientras que los compuestos fenólicos poseen efecto antihipertensivo por inhibir la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Riaz et al., 2023).

De manera similar, la FD ejerce un rol antiinflamatorio a través de la regulación negativa del factor nuclear kappa B (NF- κ B) y la reducción en la producción de citocinas proinflamatorias mediante la generación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Los AGCC permiten mantener la diversidad de la microbiota y la integridad de la barrera intestinal y su alteración puede conducir al paso de metabolitos al torrente sanguíneo como los lipopolisacáridos (LPS) (Grosso et al., 2022), sumado a estos mecanismos, la FD ha demostrado reducir el riesgo de hiperglicemia y regular los niveles de colesterol LDL y triglicéridos (Alahmari, 2024). Por su parte, los ácidos grasos omega 3, ácidos eicosapentaenoico (EPA) y

docosahexaenoico (DHA) han demostrado inhibir vías inflamatorias, reduciendo la expresión de citocinas inflamatorias y niveles séricos de triglicéridos y colesterol LDL (Banaszak et al., 2024).

Por otro lado, los alimentos que se han asociado con mayor inflamación y riesgo cardiometabólico son los ultra procesados (UPF), los cuales en su mayoría son densos en energía, con alto contenido de azúcares agregados, ácidos grasos saturados y trans, sodio y bajos en nutrientes como fibra, vitaminas y minerales. Además, contienen aditivos químicos para mejorar la aceptabilidad, mejorando cualidades sensoriales y alargando la vida útil, incluyendo saborizantes, emulsionantes y edulcorantes (Tristan Asensi, Napoletano, Sofi, & Dinu, 2023b). El procesamiento industrializado de estos alimentos puede acelerar la formación de productos de glicación avanzada (AGEs), aumentando el potencial inflamatorio de la dieta (Juul, Vaidean, & Parekh, 2021). Asimismo, una alimentación rica en UPF conduce al desequilibrio de la microbiota intestinal, deteriorando la función barrera y aumentando la permeabilidad, permitiendo el paso de LPS al torrente sanguíneo, desencadenando inflamación sistémica (Rondinella et al., 2025).

Un estudio analizó la dieta en población chilena y determinó que una mayor ingesta de UPF se asocia con un aporte nutricional poco saludable, implicando mayor aporte de

densidad energética, azúcares libres y grasas trans, con una ingesta insuficiente de FD, con el consumo de alimentos UPF representando un 28,6% de la energía total diaria (Cediel et al., 2021).

El índice inflamatorio de la dieta (DII) es una herramienta que permite evaluar el potencial inflamatorio de la dieta, analizando 45 componentes dietéticos que han demostrado tener efectos sobre ciertos marcadores de inflamación: interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y proteína C reactiva (PCR). Su desarrollo incorporó estudios realizados en cultivos celulares, animales y epidemiológicos, basando su puntaje en resultados publicados en la literatura científica. Esta herramienta considera macronutrientes, micronutrientes, FD y compuestos bioactivos con un total de 16 flavonoides agrupados en 6 categorías (antocianinas, flavan-3-oles, flavonoles, flavononas, isoflavonas y flavonas) y alimentos específicos que han sido estudiados por su rol en la inflamación. Para determinar las puntuaciones DII se pueden aplicar distintas herramientas de evaluación dietética en medida que proporcione datos sobre la ingesta de nutrientes. La evidencia, ha demostrado que el DII presenta asociación positiva significativa con la incidencia de ECV, donde los individuos con dieta más proinflamatorias presentan un 35% mayor riesgo de padecerlas. Estos

antecedentes permiten que pueda ser utilizada para evaluar y guiar los objetivos dietéticos para disminuir los niveles de inflamación y riesgo de enfermedades asociadas (Hébert, Shivappa, Wirth, Hussey, & Hurley, 2019; Namazi, Larijani, & Azadbakht, 2018; Shivappa, Steck, Hurley, Hussey, & Hébert, 2014a).

Entre los biomarcadores de inflamación evaluados por el DII, la IL-1 β destaca por su implicancia en diversas ECVs (Libby, 2017). Su síntesis está estrechamente regulada por el sistema inmune innato (Bent, Moll, Grabbe, & Bros, 2018), el cual protege de estímulos dañinos detectados, como la presencia de patógenos, daño celular y compuestos tóxicos (R. Wang et al., 2024) a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRR). La activación de PRR desencadena el proceso inflamatorio (Chen et al., 2018; Spiering, 2015), activando la vía inflamatoria criopirina (NLRP3) y secretando IL-1 β (Feng et al., 2025).

Este inflamoma es un complejo multiproteico citosólico, cuya activación aumenta en condiciones metabólicas como la diabetes tipo 1 y 2, artritis reumatoide, enfermedad de hígado graso no alcohólico, sobrepeso y obesidad (Nițulescu, Ciulei, Cozma, Procopciuc, & Orășan, 2023). Los principales desencadenantes de su activación comprenden la presencia y acumulación de cristales de colesterol, lipoproteínas de baja densidad oxidadas (OxLDL), ácidos grasos libres (AGL), ROS

inducidos por glucosa, productos de glicación avanzada (AGEs), lipopolisacáridos (LPS) y adenosín trifosfato (ATP) (Jin & Fu, 2019; Leu et al., 2023).

La liberación de IL-1 β promueve el incremento de la expresión de moléculas de adhesión como la Molécula de Adhesión Intercelular-1 (ICAM1) y la Molécula de Adhesión de Células Vasculares-1 (VCAM-1) (Yang et al., 2010), desencadenando el reclutamiento de monocitos hacia la superficie endotelial vascular, favoreciendo la liberación de citocinas adicionales y adhesión de partículas lipídicas promoviendo el proceso aterosclerótico (Singh, Kaur, Kumari, Pasricha, & Singh, 2023). Esta se expresa en diversos tejidos y células, especialmente en macrófagos inducidos por la placa ateromatosa, células endoteliales y espumosas, placas Peyer, tracto digestivo, células musculares lisas y fibroblastos (N. Kaneko, Kurata, Yamamoto, Morikawa, & Masumoto, 2019).

Considerando que en Chile las ECV representan una de las principales causas de muerte, que la alimentación puede contribuir a aumentar o disminuir la inflamación sistémica, y que el DII no ha sido aplicado en población chilena es relevante evaluar estos aspectos localmente, permitiendo la caracterización de la dieta y su relación con la presencia de factores RCV en adultos chilenos.

Objetivos:

Objetivo general:

Comparar el índice inflamatorio de la dieta (DII), los niveles de interleucina-1 beta (IL-1 β) en plasma y glicemia en ayuno, entre adultos chilenos con y sin riesgo cardiovascular.

Objetivos específicos:

- Determinar el Índice inflamatorio de la dieta en adultos chilenos con y sin riesgo cardiovascular.
- Evaluar los niveles plasmáticos de interleucina-1 beta en adultos chilenos con y sin riesgo cardiovascular.
- Relacionar los niveles de glicemia en ayuno con niveles plasmáticos de interleucina-1 beta e DII, en adultos chilenos con y sin riesgo cardiovascular.

Materiales y métodos:

1. Diseño de estudio:

El presente estudio corresponde a un piloto observacional de corte transversal diseñado para evaluar las relaciones entre los niveles plasmáticos de interleucina-1 beta, glicemia en ayuno y el índice inflamatorio de la dieta.

2. Población de estudio:

La muestra constará de un total de 24 participantes de los cuales 12 serán adultos sin riesgo cardiovascular y 12 serán adultos con riesgo cardiovascular, donde cada grupo muestral se dividirá en 50% participantes hombres y 50% participantes mujeres, que serán reclutados en la Asociación de

Diabéticos de Chile (ADICH) y Universidad de Valparaíso, en la región Metropolitana y de Valparaíso, respectivamente.

3. Criterios de inclusión y exclusión:

El grupo muestral de participantes sin riesgo cardiovascular cumplirá los siguientes criterios de inclusión: tener entre 20-60 años, ausencia de enfermedades crónicas no transmisibles diagnosticadas (dislipidemia, hipertensión arterial, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico), no presentar obesidad abdominal, capacidad para otorgar consentimiento informado y disposición a realizarse los procedimientos del estudio (exámenes de sangre, encuesta alimentaria y antropometría) y criterios de exclusión: presentar un IMC superior a 25 kg/m², embarazo, tabaquismo, uso crónico de medicación, uso de dosis terapéuticas de suplementos con efecto antiinflamatorio (EPA, DHA $\geq$ 2 g/día).

El grupo muestral de participantes con riesgo cardiovascular cumplirá los siguientes criterios de inclusión: tener entre 20-60 años, contar con dos o más factores de riesgo cardiovascular diagnosticados (dislipidemia, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo II, obesidad abdominal o enfermedad del hígado graso no alcohólico), presentar capacidad para otorgar consentimiento informado y disposición a participar en todos los procedimientos del estudio y criterios de exclusión: los siguientes criterios de exclusión: presentar un IMC superior a 35 kg/m², embarazo y uso de dosis terapéuticas

de suplementos antiinflamatorios (EPA, DHA ≥ 2 g/día).

Evaluación antropométrica:

Composición y peso corporal: Se determinó a través de bioimpedancia, utilizando el modelo InBody Dial H20, posicionando al usuario con pies descalzos sobre los electrodos inferiores, en posición recta son manos y pulgares en contacto con electrodos.

Talla: Se midió utilizando estadiómetro portátil marca SECA modelo 213, posicionado al usuario de pie, con brazos al costado, erguido y con talones apoyados en el posicionador de talón, con la cabeza posicionada en el plano horizontal de Frankfort.

Circunferencia de cintura: Se midió utilizando cinta metálica inextensible marca CESCORF, ubicando al usuario en posición erguida, palpando el área de la cadera hasta localizar borde superior de la creta iliaca derecha, se realiza marcaje sobre el borde lateral del superior del íleon cruzando con la línea media axilar. La medición se lee al final de la expiración normal (*Waist Circumference Measurement Methodology Study: National Health and Nutrition Examination Survey, 2016, 2019*).

Evaluación del estado nutricional:

El estado nutricional se evaluó mediante el índice de masa corporal (IMC) y la composición corporal se analizó considerando los datos entregados por

bioimpedancia: peso en kilogramos (kg), grasa corporal en kg y masa muscular en kg.

Recolección de información personal:

Anamnesis: Se aplicó a cada usuario de manera presencial una breve anamnesis para la recolección de datos personales y de contacto para la caracterización e identificación de cada participante.

Recolección de información dietética:

Recordatorio 24 horas: Se aplicaron 3 recordatorios de 24 horas (R24H) a cada usuario, dos de ellos son representativos de día de semana y 1 de ellos de día fin de semana. El primer recordatorio se realizó de manera presencial en conjunto con la anamnesis, frecuencia de consumo y recolección de datos antropométricos, los otros dos recordatorios se realizaron mediante videollamada.

Frecuencia de consumo: Se aplicó frecuencia de consumo a cada usuario con un listado de ingredientes específicos que son evaluados dentro del DII.

Medición de parámetros sanguíneos:

Glicemia capilar: Esta se midió utilizando un glucómetro capilar marca Accu-Chek, realizando una punción digital con previa desinfección de la zona con alcohol desnaturalizado al 70% y torundas de algodón. Los participantes presentan ayuno de 12 horas mínimo. La unidad de medida es miligramo por decilitro (mg/dL).

Interleucina-1 beta: La recolección de la muestra implicó extraer 30 ml de sangre por

participante y se realizó por un especialista utilizando todas las medidas de bioseguridad necesarias. Las muestras se recolectaron en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante para ser centrifugada y almacenada a -80°C hasta realizar la prueba ELISA.

Determinación del índice inflamatorio de la dieta:

El DII se determinó utilizando 3 R24H y cuestionario de frecuencia de consumo aplicado en los participantes, para evaluar los 45 componentes alimentarios descritos: tales como: vitamina B12, vitamina B6, beta-caroteno, cafeína, carbohidratos, colesterol, energía, grasa total, fibra, ácido fólico, ajo, jengibre, hierro, magnesio, ácidos grasos monoinsaturados, niacina, ácidos grasos omega-3, ácidos grasos omega-6, cebolla, flavan-3-ol, flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianinas, isoflavonas, entre otros.

Para la cuantificación del aporte nutricional de cada compuesto se utilizará SER-24H y base de datos del departamento de agricultura (USDA). El cálculo sigue el protocolo estándar publicado por Shivappa et al. 2014 (Shivappa, Steck, Hurley, Hussey, & Hébert, 2014b).

4. Análisis estadístico:

Los datos se analizan con prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar su distribución. Para las variables con distribución normal, las diferencias entre los participantes sin riesgo cardiovascular y con

riesgo cardiovascular se determinarán con una prueba T-Student. Para los datos con distribución no normal, se utiliza prueba de Mann Whitney. Para la relación entre los niveles de IL-1 β , glicemia y la puntuación DII, se utiliza correlación (Pearson o Spearman) entre las variables de cada grupo de participantes. Las diferencias se consideran significativas cuando $p < 0,05$.

Resultados parciales:

En la actualidad el análisis de resultados sigue en curso, de momento se presentan resultados esperados en relación con revisión de literatura y además caracterización de la muestra de estudio.

Diferencias del índice inflamatorio de la dieta:

Se espera que los participantes con RCV presenten diferencias significativas del puntaje DII comparado con aquellos sin RCV.

Año	Población	n	Diseño de estudio	Grupos comparados	Resultado	p-valor	Justificación
2018 (Shivappa et al., 2018)	No definida.	161.337	Metaanálisis	Individuos con puntaje DII más alto versus más bajo.	RR = 1,36, IC del 95%: 1,19–1,57 $p < 0,001$	$p < 0,05$	Los individuos en el grupo de exposición a un DII más alto versus el más bajo tuvieron un riesgo 36% mayor de ECV; además por punto de aumento del DII, el riesgo de ECV aumenta un 8%.
2024 (E. Wang, Fang, Zhang, & Wang, 2024)	Adultos con enfermedad coronaria, edad promedio de 67,00 $\pm$ 0,39 años.	1.303	Retrospectivo	Individuos con DII > 0 (proinflamatorio) vs. DII < 0 (antiinflamatorio) y su mortalidad.	OR = 1,06, IC del 95%: 1-1,12	$p < 0,05$	Pacientes con enfermedad coronaria y dietas proinflamatorias experimentaron 41% más riesgo de mortalidad en comparación con aquellos con dietas antiinflamatorias.

Tabla 1. Estudios sobre la diferencia del índice inflamatorio de la dieta en poblaciones.

Diferencias en los niveles de IL-1 β plasmática:

Se espera que los participantes con RCV presenten diferencias significativas en los niveles plasmáticos de la citocina, comparado con aquellos sin RCV.

Año	Población	n	Diseño de estudio	Grupos comparados	Resultado	p-valor	Justificación
2020 (Joung et al., 2020)	Voluntarios con y sin antecedentes de diabetes.	110 sujetos: 52 de ellos sin diabetes y 58 con diabetes.	Transversal	Sujetos con diabetes diagnosticada y sin diabetes diagnosticada (grupo control)	Grupo con diabetes: $r = 0.482$, $p < 0.001$ Grupo sin diabetes: $r = 0.096$, $p = 0.496$	$p < 0.05$	La puntuación de riesgo de ECV de Framingham mostró una correlación positiva con el nivel sérico de IL-1 β en el grupo con diabetes, no es significativa para sujetos sin diabetes.
2024	Pacientes con presencia de ECV y caso control.	No definido	Revisión sistemática	Pacientes con presencia de ECV y pacientes sin ECV.	SMD total: 0.78 (95% CI: 0.64, 0.92) Valor p : $p < 0.00001$	$p < 0.05$	Los pacientes con ECV tienen niveles de IL-1 β significativamente más

(Katkenov
et al.,
2024)

Test estadístico: Z =
11.30
Heterogeneidad: I² = 0%
(Tau² = 0.00; Chi² = 5.29,
P = 0.81)

elevados que el grupo
control

Tabla 2. Estudios sobre la diferencia de niveles IL-1 β plasmática en poblaciones.

Diferencia de glicemia en ayuno:

Se espera que los participantes con RCV presenten valores de glicemia más elevados que los participantes sin RCV, presentando diferencias significativas.

Año	Población	n	Diseño de estudio	Grupos comparados	Resultado	p-valor	Justificación
2021 (H. Kaneko et al., 2021)	Adultos jóvenes sin antecedentes de ECV Datos recolectados de base de datos médicos de Japón.	1.180.062	Revisión sistemática	Grupo de personas con glicemia en ayuno (FPG) según: 1) FPG <100 mg/dL normal. 2) FPG de 100-109 mg/dL normal- alta. 3) FPG 110-125 mg/dL alterada. 4) FPG $\geq$ 126 mg/dL diabetes.	Curvas de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank mostraron que las categorías de FPG se asocian con el desarrollo de infarto de miocardio, angina de pecho, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular, todos p < 0,001.	p < 0,05	La tasa de ocurrencia de cada evento de ECV aumentó de acuerdo con la categoría de FPG

Tabla 3. Estudios sobre la diferencia de glicemia plasmática en poblaciones.

Caracterización de la muestra:

Información general de participantes
Número total de registros: 13
Número total de variables: 37

Tabla 4. Información general de participantes.

En este caso, un participante está en proceso de retiro y debido a ello se sumó una persona más.

	Peso (kg)	Talla (cm)	IMC	CC
Media	85.25	164.94	31.18	101.88
Std	9.18	9.99	2.06	7.7
Min	73.4	152.6	26.6	87.6
p25	77.8	154.4	30	97.4
p50	85.2	163.7	32	99.5
p75	93.1	175.3	32.3	107.6
max	101.8	179	33.7	115.5

	Edad	% grasa	Músculos (kg)	Grasa visceral
Media	50.77	40.41	28.13	17.23
Std	6.93	6.56	5.97	2.95
Min	36	28.7	20.6	11
p25	50	36.8	22.1	16
p50	53	38.5	27.8	18
p75	54	44.7	33.9	20
max	59	50.2	35.9	20

Tabla 5. Variables numéricas, estadísticas descriptivas.

Variable	Categoría	Frecuencia
Sexo	Femenino	7
	Masculino	6
Dislipidemia	No tiene	4
	Sí tiene	9
Hipertensión	No tiene	4
	Sí tiene	9
Diabetes	No tiene	2
	Sí tiene	11
Obesidad abd.	No tiene	4
	Sí tiene	9
Hígado graso	No tiene	9
	Sí tiene	4
Actividad física	No realiza	6
	Sí realiza	7

Variable	Categoría	Porcentaje
Sexo	Femenino	53.8%
	Masculino	46.2%
Dislipidemia	No tiene	30.8%
	Sí tiene	69.2%
Hipertensión	No tiene	30.8%
	Sí tiene	69.2%
Diabetes	No tiene	15.4%
	Sí tiene	84.6%
Obesidad abd.	No tiene	30.8%
	Sí tiene	69.2%
Hígado graso	No tiene	69.2%
	Sí tiene	30.8%
Actividad física	No realiza	46.2%
	Sí realiza	53.8%

Tabla 6. Análisis de variables y factores de riesgo cardiovascular.

Categoría	Frecuencia	Porcentaje
Leve	5	71.4%
Moderada	2	28.6%

Tabla 7. Análisis de actividad física.

Los medicamentos más consumidos en esta muestra son: Jardiance, Atorvastatina, Losartán, Bladuril, Eutirox y Metformina.

Lo suplementos más consumidos en esta muestra son: Vitamina D, Melatonina, Probióticos.

Condición médica	Casos	Prevalencia (%)
Dislipidemia	9	69.2%
HTA	9	69.2%
Diabetes mellitus	11	84.6%
Obesidad abdominal	9	69.2%
Hígado graso	4	30.8%

Tabla 8. Prevalencia de condiciones médicas de los participantes.

En relación con los resultados tabulados, se puede observar que el IMC promedio representa estado nutricional de obesidad y la circunferencia de cintura indica obesidad

abdominal, contribuyendo a un perfil de riesgo cardiovascular.

Además, la actividad física leve predomina en esta muestra.

Discusión:

Este estudio piloto representa la primera aplicación del DII en la población chilena, permitiendo caracterizar el perfil inflamatorio de los habitantes de este país, considerando enfermedades cardiovasculares, las cuales contribuyen al perfil inflamatorio.

La metodología propuesta posee fortalezas al demostrar mayor representatividad considerando tres R24HRS, frecuencia de consumo modificada y selección de población de dos zonas geográficas diferentes.

Una de las limitaciones es el tamaño muestral, sin embargo, al ser estudio piloto se comprende el tamaño reducido de esta y da paso a la contribución del desarrollo científico e instauración de metodología para posible replicación a futuro con mayor tamaño muestral y representatividad y que podría extrapolarse a diferentes países.

Los resultados esperados tienen potencial impacto en el tratamiento nutricional de enfermedades que involucren estados inflamatorios como lo son las enfermedades crónicas, permitiendo enfocar una alimentación antiinflamatoria.

Es interesante considerar en futuros proyectos de este índole la hemoglobina glicosilada, ya que es representativa del control metabólico en patologías asociadas a

alteraciones de glicemias, siendo, además, un producto de glicación avanzada que podría estar relacionado con el consumo de ultraprocesados.

Conclusión:

Esta investigación contribuye al conocimiento del perfil inflamatorio y su aplicación en estudios futuros, proporcionando evidencia in vivo sobre la relación de la alimentación y factores inflamatorios con parámetros de control metabólico en el contexto del riesgo cardiovascular nacional. Se espera demostrar que los adultos con riesgo cardiovascular presenten un DII significativamente mayor, niveles elevados de IL-1 β plasmática y glicemia en ayuno comparado con individuos sin riesgo cardiovascular, confirmando correlaciones positivas entre las variables.

Los hallazgos de esta investigación podrán ser considerados como base para futuros proyectos científicos.

Bibliografía:

- Ajoolabady, A., Pratico, D., Lin, L., Mantzoros, C. S., Bahijri, S., Tuomilehto, J., & Ren, J. (2024). Inflammation in atherosclerosis: pathophysiology and mechanisms. *Cell Death & Disease*, 15(11), 817. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-07166-8>
- Alahmari, L. A. (2024). Dietary fiber influence on overall health, with an emphasis on CVD, diabetes, obesity, colon cancer, and inflammation. *Frontiers in Nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1510564>
- Alfaddagh, A., Martin, S. S., Leucker, T. M., Michos, E. D., Blaha, M. J., Lowenstein, C. J., ... Toth, P. P. (2020). Inflammation and cardiovascular disease: From mechanisms to therapeutics. *American Journal of Preventive Cardiology*, 4, 100130. <https://doi.org/10.1016/j.ajpc.2020.100130>
- Banaszak, M., Dobrzyńska, M., Kawka, A., Górna, I., Woźniak, D., Przysławski, J., & Drzymała-Czyż, S. (2024). Role of Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) as modulatory and anti-inflammatory agents in noncommunicable diet-related diseases – Reports from the last 10 years. *Clinical Nutrition ESPEN*, 63, 240–258. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.06.053>
- Bays, H. E., Agarwala, A., German, C., Satish, P., Iluyomade, A., Dudum, R., ... Toth, P. P. (2022). Ten things to know about ten cardiovascular disease risk factors – 2022. *American Journal of Preventive Cardiology*, 10, 100342. <https://doi.org/10.1016/j.ajpc.2022.100342>
- Bent, R., Moll, L., Grabbe, S., & Bros, M. (2018). Interleukin-1 Beta—A Friend or Foe in Malignancies? *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2155. <https://doi.org/10.3390/ijms19082155>
- Cediel, G., Reyes, M., Corvalán, C., Levy, R. B., Uauy, R., & Monteiro, C. A. (2021). Ultra-processed foods drive to unhealthy diets: evidence from Chile. *Public Health Nutrition*, 24(7), 1698–1707. <https://doi.org/10.1017/S1368980019004737>
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., ... Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Chile-Overview of the distribution of causes of total deaths grouped by category. (n.d.). Retrieved from <https://platform.who.int/mortality/countries/country-details/MDB/chile>

- Christ, A., & Latz, E. (2019). The Western lifestyle has lasting effects on metaflammation. *Nature Reviews Immunology*, 19(5), 267–268. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0156-1>
- Di Cesare, M., Perel, P., Taylor, S., Kabudula, C., Bixby, H., Gaziano, T. A., ... Pinto, F. J. (2024). The Heart of the World. *Global Heart*, 19(1), 11. <https://doi.org/10.5334/gh.1288>
- Dwivedi, A. K., Dubey, P., Cistola, D. P., & Reddy, S. Y. (2020, April 1). Association Between Obesity and Cardiovascular Outcomes: Updated Evidence from Meta-analysis Studies. *Current Cardiology Reports*, Vol. 22. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-1273-y>
- Feng, S., Wierzbowski, M. C., Hrovat-Schaale, K., Dumortier, A., Zhang, Y., Zyulina, M., ... Masters, S. L. (2025). Mechanisms of NLRP3 activation and inhibition elucidated by functional analysis of disease-associated variants. *Nature Immunology*, 26(3), 511–523. <https://doi.org/10.1038/s41590-025-02088-9>
- Fernández-Verdejo, R., Moya-Osorio, J. L., Fuentes-López, E., & Galgani, J. E. (2020). Metabolic health and its association with lifestyle habits according to nutritional status in Chile: A cross-sectional study from the National Health Survey 2016-2017. *PLOS ONE*, 15(7), e0236451. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236451>
- Greenfield, D. M., & Snowden, J. A. (2018). Cardiovascular diseases and metabolic syndrome. In *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies* (pp. 415–420). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02278-5_55
- Grosso, G., Laudisio, D., Frias-Toral, E., Barrea, L., Muscogiuri, G., Savastano, S., & Colao, A. (2022). Anti-Inflammatory Nutrients and Obesity-Associated Metabolic-Inflammation: State of the Art and Future Direction. *Nutrients*, 14(6), 1137. <https://doi.org/10.3390/nu14061137>
- Hébert, J. R., Shivappa, N., Wirth, M. D., Hussey, J. R., & Hurley, T. G. (2019). Perspective: The Dietary Inflammatory Index (DII)—Lessons Learned, Improvements Made, and Future Directions. *Advances in Nutrition*, 10(2), 185–195. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy071>
- Jin, Y., & Fu, J. (2019). Novel Insights Into the NLRP 3 Inflammasome in Atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*, 8(12), e012219. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.012219>

- Joung, K. H., Kim, J. M., Choung, S., Lee, J. H., Kim, H. J., & Ku, B. J. (2020). Association between IL-1 β and cardiovascular disease risk in patients with newly diagnosed, drug-naïve type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *Annals of Translational Medicine*, 8(5), 225–225. <https://doi.org/10.21037/atm.2020.01.17>
- Juul, F., Vaidean, G., & Parekh, N. (2021). Ultra-processed Foods and Cardiovascular Diseases: Potential Mechanisms of Action. *Advances in Nutrition*, 12(5), 1673–1680. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab049>
- Kaneko, H., Itoh, H., Kiriya, H., Kamon, T., Fujiu, K., Morita, K., ... Komuro, I. (2021). Fasting plasma glucose and subsequent cardiovascular disease among young adults: Analysis of a nationwide epidemiological database. *Atherosclerosis*, 319, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.12.024>
- Kaneko, N., Kurata, M., Yamamoto, T., Morikawa, S., & Masumoto, J. (2019). The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflammation and Regeneration*, 39(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5>
- Katkenov, N., Mukhatayev, Z., Kozhakhmetov, S., Sailybayeva, A., Bekbossynova, M., & Kushugulova, A. (2024). Systematic Review on the Role of IL-6 and IL-1 β in Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 11(7), 206. <https://doi.org/10.3390/jcdd11070206>
- Kotas, M. E., & Medzhitov, R. (2015). Homeostasis, inflammation, and disease susceptibility. *Cell*, 160(5), 816–827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.010>
- Leu, S.-Y., Tsang, Y.-L., Ho, L.-C., Yang, C.-C., Shao, A.-N., Chang, C.-Y., ... Tsai, Y.-S. (2023). NLRP3 inflammasome activation, metabolic danger signals, and protein binding partners. *Journal of Endocrinology*, 257(2). <https://doi.org/10.1530/JOE-22-0184>
- Libby, P. (2017). Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(18), 2278–2289. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.09.028>
- Namazi, N., Larijani, B., & Azadbakht, L. (2018). Dietary Inflammatory Index and its Association with the Risk of Cardiovascular Diseases, Metabolic Syndrome, and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hormone and Metabolic Research*, 50(05), 345–358. <https://doi.org/10.1055/a-0596-8204>
- Nițulescu, I. M., Ciulei, G., Cozma, A., Procopciuc, L. M., & Orășan, O. H. (2023). From Innate Immunity to

- Metabolic Disorder: A Review of the NLRP3 Inflammasome in Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Medicine*, 12(18), 6022. <https://doi.org/10.3390/jcm12186022>
- Orientación Técnica Programa de Salud Cardiovascular. (2017). Publicación, U., Comité, D., De, N., & Vitales, E. (n.d.). *ANUARIO DE ESTADÍSTICAS VITALES*. Retrieved from www.ine.gob.cl
- Reynolds, A., & Mann, J. (2022, September 1). Update on Nutrition in Diabetes Management. *Medical Clinics of North America*, Vol. 106, pp. 865–879. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2022.03.003>
- Riaz, M., Khalid, R., Afzal, M., Anjum, F., Fatima, H., Zia, S., ... Aslam, M. A. (2023). Phytobioactive compounds as therapeutic agents for human diseases: A review. *Food Science & Nutrition*, 11(6), 2500–2529. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3308>
- Rondinella, D., Raoul, P. C., Valeriani, E., Venturini, I., Cintoni, M., Severino, A., ... Ianiro, G. (2025). The Detrimental Impact of Ultra-Processed Foods on the Human Gut Microbiome and Gut Barrier. *Nutrients*, 17(5), 859. <https://doi.org/10.3390/nu17050859>
- Roth, G. A., Mensah, G. A., Johnson, C. O., Addolorato, G., Ammirati, E., Baddour, L. M., ... Fuster, V. (2020). Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(25), 2982–3021. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.010>
- Salud, D. E. (n.d.). *Marzo 2025, VOL 2 N°1 ESTRATEGIA NACIONAL*.
- Shivappa, N., Godos, J., Hébert, J., Wirth, M., Piuri, G., Speciani, A., & Grosso, G. (2018). Dietary Inflammatory Index and Cardiovascular Risk and Mortality—A Meta-Analysis. *Nutrients*, 10(2), 200. <https://doi.org/10.3390/nu10020200>
- Shivappa, N., Steck, S. E., Hurley, T. G., Hussey, J. R., & Hébert, J. R. (2014a). Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutrition*, 17(8), 1689–1696. <https://doi.org/10.1017/S1368980013002115>
- Shivappa, N., Steck, S. E., Hurley, T. G., Hussey, J. R., & Hébert, J. R. (2014b). Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutrition*, 17(8), 1689–1696. <https://doi.org/10.1017/S1368980013002115>
- Singh, V., Kaur, R., Kumari, P., Pasricha, C., & Singh, R. (2023). ICAM-1 and VCAM-1: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clinica Chimica Acta*, 548, 117487.

- <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.11748>
7
- Spiering, M. J. (2015). Primer on the Immune System. *Alcohol Research: Current Reviews*, 37(2), 171–175.
- Tristan Asensi, M., Napoletano, A., Sofi, F., & Dinu, M. (2023a). Low-Grade Inflammation and Ultra-Processed Foods Consumption: A Review. *Nutrients*, 15(6), 1546. <https://doi.org/10.3390/nu15061546>
- Tristan Asensi, M., Napoletano, A., Sofi, F., & Dinu, M. (2023b). Low-Grade Inflammation and Ultra-Processed Foods Consumption: A Review. *Nutrients*, 15(6), 1546. <https://doi.org/10.3390/nu15061546>
- Voglhuber, J., Ljubojevic-Holzer, S., Abdellatif, M., & Sedej, S. (2021). Targeting Cardiovascular Risk Factors Through Dietary Adaptations and Caloric Restriction Mimetics. *Frontiers in Nutrition*, 8, 758058. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.758058>
- 8
- Waist circumference measurement methodology study: National Health and Nutrition Examination Survey, 2016.* (2019). U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics.
- Wang, E., Fang, C., Zhang, J., & Wang, Y. (2024). Association between dietary inflammatory index and all-cause mortality risk in adults with coronary heart disease in the United States. *Scientific Reports*, 14(1), 23998. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-75381-6>
- Wang, R., Lan, C., Benlagha, K., Camara, N. O. S., Miller, H., Kubo, M., ... Liu, C. (2024). The interaction of innate immune and adaptive immune system. *MedComm*, 5(10), e714. <https://doi.org/10.1002/mco2.714>
- Yang, C., Luo, S., Hsieh, H., Chi, P., Lin, C., Wu, C., & Hsiao, L. (2010). Interleukin-1 β induces ICAM-1 expression enhancing leukocyte adhesion in human rheumatoid arthritis synovial fibroblasts: Involvement of ERK, JNK, AP-1, and NF- κ B. *Journal of Cellular Physiology*, 224(2), 516–526. <https://doi.org/10.1002/jcp.22153>
- Yu, X., Pu, H., & Voss, M. (2024). Overview of anti-inflammatory diets and their promising effects on non-communicable diseases. *British Journal of Nutrition*, 132(7), 898–918. <https://doi.org/10.1017/S0007114524001405>

Financiamiento:

Se agradece el financiamiento para la realización de este estudio a Proyecto de Investigación INICI-UV.

39.- Salud humana

Evaluación de la función cardíaca in vivo e in vitro en ratas diabéticas pre y perimenopáusicas

Autor: Ortega; Matías; matias.ortega@postgrado.uv.cl.

Co-autor(es): Espinoza, Mario; Ordenes, Vannia; Díaz-Navarro, Rienzi.

Orientador/a: Sáez, Tamara; tamara.saez@uv.cl.

Universidad de Valparaíso / Facultad de Medicina, Centro Interdisciplinario de Investigación Biomédica e Ingeniería para la Salud (MEDING), Laboratorio de Fisiología Cardiovascular.

Resumen

La miocardiopatía diabética (MCD) es una complicación silente de la diabetes que conduce a insuficiencia cardíaca y que suele ser más severa en mujeres. Sus mecanismos moleculares se asocian con alteraciones en el manejo de $\text{Ca}^{2+}_{(\text{cit})}$, aunque se desconoce si su severidad es independiente de la edad en mujeres premenopáusicas. Este estudio evalúa si la diabetes inducida por estreptozotocina (STZ) causa disfunción cardíaca en ratas pre y perimenopáusicas, alterando el manejo miocárdico de $\text{Ca}^{2+}_{(\text{cit})}$.

Ratas Sprague-Dawley de 4 y 9 meses (pre y perimenopausia) recibieron STZ (65mg/kg) o vehículo. Tras 12 semanas, se evaluó la función cardíaca in vivo por ecocardiografía modo M; luego se aislaron cardiomiocitos del ventrículo izquierdo para evaluar los transitorios de $\text{Ca}^{2+}_{(\text{cit})}$ y la longitud sarcomérica con IonOptix. Los datos (media $\pm$ DE) se analizaron mediante t-test o two-way ANOVA ($p \leq 0,05$; $n=3-11$; bioética BEA206-24).

La diabetes redujo la fracción de acortamiento (4m: $54,9 \pm 4,5$ vs $45 \pm 7,7$; 9m: $60,6 \pm 5,6$ vs $44,5 \pm 7,9\%$) y la fracción de eyección en ambas edades (4m: $89,1 \pm 4,5$ vs $80,8 \pm 7,6$; 9m: $92,7 \pm 2,7$ vs $80,8 \pm 8,7\%$), y aumentó el diámetro de la pared ventricular en sístole (4m: $2,6 \pm 0,3$ vs $3,9 \pm 0,7$; 9m: $2,6 \pm 0,6$ vs $4,1 \pm 0,9\text{mm}$), vs controles. Cardiomiocitos diabéticos perimenopáusicos presentaron una tendencia a una elevada $[\text{Ca}^{2+}]_{(\text{cit})}$ (AUC $0,7 \pm 0,003$ vs $0,8 \pm 0,005$) y desplazamiento hacia la derecha en la relación $[\text{Ca}^{2+}]_{(\text{cit})}$ –longitud sarcomérica vs control (pEC_{50} $6,6 \pm 0,1$ vs $5,4 \pm 0,1$).

Estos resultados sugieren que la diabetes reduce la sensibilidad al $\text{Ca}^{2+}_{(\text{cit})}$ de los cardiomiocitos, causando disfunción sistólica independientemente de la edad, lo que subraya la necesidad de intervenciones tempranas para prevenir o retrasar la MCD en mujeres premenopáusicas.

Palabras clave: Miocardiopatía Diabética, Premenopausia, Función Cardíaca.

Introducción

Diabetes mellitus y miocardiopatía diabética

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica crónica que se caracteriza por elevados niveles de glicemia, en la que el organismo no secreta suficiente insulina o no responde eficazmente a la insulina que produce (OMS, 2023; PAHO, 2021). Entre los tipos más comunes de esta patología están la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), sin embargo, más del 90% de los casos corresponden a DM2, cuya prevalencia presenta un alza constante y afecta a grupos etarios cada vez más jóvenes (OMS, 2023). La federación internacional de la diabetes (FID) indica en la 10^{ma} edición de su atlas que en el 2021 un 10% de la población adulta padece diabetes y se estima que dicho valor aumentará en un 12% para el año 2045 (FID, 2021). Si bien, la DM afecta tanto a hombres como mujeres, la encuesta nacional de salud (ENS) 2016-2017 reportó una prevalencia mayor en mujeres que hombres, con un 14% vs un 10%, respectivamente (Ministerio de salud, 2018). Dependiendo del manejo de esta condición y que tan bien controlada este, la DM puede asociarse al desarrollo de diversas complicaciones en el organismo,

tales como alteraciones cardiovasculares, daño nervioso, daño renal, entre otros (Zheng et al., 2018).

Dentro de las complicaciones derivadas de la DM, las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen la principal causa de muerte en pacientes diabéticos (Siam et al., 2024; Zheng et al., 2018). Se sabe que las mujeres tienen un cierto grado de protección frente a las complicaciones cardiovasculares conferido por las hormonas femeninas (específicamente los estrógenos), lo cual disminuye a medida que envejecen (Iorga et al., 2017); sin embargo, la DM contrarresta esta protección en mujeres adultas no menopáusicas, aumentando de forma considerable el riesgo de desarrollar dichas complicaciones; y, por ende, de ECV (Mascarenhas-Melo et al., 2013; Zheng et al., 2018).

Entre dichas alteraciones, la miocardiopatía diabética (MCD) se muestra como una de las principales complicaciones de la DM pobremente tratada y que favorece el desarrollo de ECV. La MCD es una condición que se desarrolla en ausencia de otros factores cardiacos, tales como hipertensión arterial o cardiopatía coronaria, cuyo diagnóstico es complejo al ser una patología que progresa lenta y

silenciosamente sin dar lugar a manifestaciones clínicas evidentes (Borghetti et al., 2018). Ésta puede presentarse tanto en pacientes con DM1 como con DM2, y se caracteriza por una disfunción diastólica en estadios tempranos, la cual a medida que progresa se asocia eventualmente a una disfunción sistólica, junto a la cual puede evolucionar en una insuficiencia cardíaca, comprometiendo la vida de la paciente (Devereux et al., 2000; Heidenreich et al., 2022; Suran et al., 2016). Las características asociadas a MCD, tanto macro como microestructurales, se acentúan aún más en mujeres comparados a hombres, ya sea en estudios humanos como animales (Fourny et al., 2021; Kiencke et al., 2010; Toedebusch et al., 2018); lo que sugiere que tanto el desarrollo como progresión de MCD en mujeres diabéticas son más severos que en hombres diabéticos. Dado que la DM elimina la cardioprotección en mujeres adultas no menopáusicas; i.e. pre y perimenopáusicas, este grupo presenta un alto riesgo de desarrollar ECV, especialmente tras la menopausia. Por ello, la evaluación temprana de la función cardíaca y la detección oportuna de la MCD son fundamentales.

Miocardopatía diabética y disfunción cardíaca

El corazón es un órgano muscular especializado y de alta complejidad cuya

función principal es el bombeo rítmico de la sangre para garantizar la perfusión tisular adecuada. Este proceso es posible gracias a una coordinación precisa entre la actividad eléctrica y mecánica del miocardio. La contracción del corazón se origina en el nodo sinoatrial (NSA), que actúa como marcapasos intrínseco al generar impulsos eléctricos de forma autónoma, los cuales se propagan a través del sistema de conducción cardíaco, que incluyen el nodo atrioventricular (NAV), el Haz de His, y las fibras de Purkinje (Hall, 2016). Este sistema asegura la sincronización temporal entre la contracción atrial y ventricular, optimizando el llenado y eyección de las cámaras cardíacas en las fases de diástole y sístole, respectivamente. A nivel celular, el potencial de acción cardíaco se caracteriza por fases específicas (despolarización rápida, meseta y repolarización) mediadas por corrientes iónicas de Na^+ , Ca^{2+} y K^+ , reguladas de manera precisa por canales iónicos, bombas y transportadores específicos. La convergencia entre las señales eléctricas y mecánicas de las fibras musculares cardíacas se conoce como acoplamiento excitación-contracción (AE-C) cardíaco, mediante el cual se controla fina y precisamente la transición entre la sístole y la diástole.

La función cardíaca depende fundamentalmente del AE-C, el cual es el proceso de excitación mediante el cual una señal eléctrica gatilla la contracción para

expulsar la sangre del corazón, donde el manejo del Ca^{2+} intracelular es esencial. Para dar lugar a la contracción, es necesario que un potencial de acción despolarice el sarcolema, llevando a la apertura de canales de Ca^{2+} dependiente de voltaje tipo L, permitiendo el ingreso de una pequeña cantidad de este ion (Bers, 2002; Eisner et al., 2017; Mayourian et al., 2018). Esto eventualmente lleva a una acumulación de Ca^{2+} en el espacio diádico, región comprendida entre el sarcolema y la membrana del retículo sarcoplásmico, donde estimula los receptores de rianodina (RyR), provocando la salida del Ca^{2+} contenido en este compartimento y aumentando prominentemente su concentración citoplasmática (liberación de calcio inducida por calcio). Tras esto, el Ca^{2+} se une a la troponina C, permitiendo que la miosina pueda unirse a los filamentos de actina y dar lugar a la contracción del cardiomiocito (Kierszenbaum, 2012). Luego, para dar lugar a la relajación, es necesario restaurar los niveles citosólicos basales de Ca^{2+} , y para ello se emplean dos mecanismos: 1) recaptación de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico mediado por la bomba SERCA (SERCA2a específicamente) y 2) bombeo de Ca^{2+} hacia el medio extracelular mediante la bomba sodio-calcio NCX y la bomba de Ca^{2+} de la membrana plasmática (PMCA) (Eisner et al., 2017). En la DM hay múltiples estímulos que impactan negativamente sobre la función

contráctil cardíaca, estando entre ellos la hiperglicemia a nivel sistémico y cardíaco. En dicho contexto, diversos estudios han descrito un manejo de Ca^{2+} alterado a nivel de miocardio vinculado al ambiente hiperglicémico que se da en esta condición (Zhao et al., 2014). Esto conduce a su vez a una alteración del AE-C y con ello, particularmente, a una función diastólica reducida (Jones et al., 2023; Lacombe et al., 2007; Sorrentino et al., 2017; Ward, 2014). La disfunción diastólica consiste en la incapacidad del ventrículo izquierdo para relajarse y llenarse de sangre durante la diástole, lo cual lleva a un aumento de las presiones de llenado para compensar, y con ello, a una eventual insuficiencia cardíaca, tal como ocurre en el curso de la MCD (Borghetti et al., 2018; Jeong & Dudley Jr, 2015; Toedebusch et al., 2018). Por otro lado, las alteraciones en el manejo del Ca^{2+} generan disfunción contráctil, lo que también puede derivar en insuficiencia cardíaca, una de las principales causas de muerte en pacientes con MCD (Zarain-Herzberg et al., 2014). La sobrecarga de Ca^{2+} puede inducir estrés oxidativo y muerte celular, y diferentes estudios han evaluado el papel de proteínas clave del acoplamiento excitación-contracción (AE-C), como SERCA2a. En corazones de ratas macho diabéticas inducidas por STZ, se ha reportado una disminución en la expresión de SERCA2a en comparación con grupos

normoglicémicos (Cheng et al., 2011; Zarainherzberg et al., 1994; Zhao et al., 2014). Estos cambios en el manejo de Ca^{2+} podrían estar relacionados, directa o indirectamente, con la actividad de SERCA2a, modulada por su regulador fosfolambano (PLN) (Kranias & Hajjar, 2012; Zarain-Herzberg et al., 2014). La hiperglicemia podría alterar el grado de fosforilación de PLN, afectando así la función de SERCA2a (Romero-García et al., 2020; Yokoe et al., 2010; Zhao et al., 2014). Sin embargo, aún se desconoce si estas modificaciones en la función cardíaca a nivel de los cardiomiocitos ocurren en ratas hembra adultas no menopáusicas.

Modelos experimentales para el estudio de MCD en hembras

Existen múltiples de modelos experimentales para estudiar DM y las complicaciones que derivan de ésta, siendo los modelos animales los más utilizados al permitir replicar adecuadamente diversos procesos biológicos y fisiopatológicos que ocurren en el humano. Se cuenta con una amplia variedad de candidatos animales, no obstante, los más comunes son los roedores, ya que son fáciles de manipular, más económicos, tienen ciclos de vida cortos y como tal son modelos bien caracterizados. Respecto a los mecanismos de inducción de DM, es posible distinguir modelos de inducción espontánea, modelos de inducción genética y modelos de

inducción experimental, donde se incluyen métodos quirúrgicos, farmacológicos y de dieta (Islam & Wilson, 2012; W.-S. Lee & Kim, 2021).

De estos métodos, la inducción química con estreptozotocina (STZ) en ratas es ampliamente utilizada, especialmente en modelos de DM1, la cual es administrada mediante inyección intraperitoneal. La STZ es un antibiótico natural derivado de la N-metil-N-nitrosourea y análogo de la N-acetil glucosamina producido por las bacterias *Streptomyces Achromogenes* (Capdevila et al., 2022). Este fármaco tiene la capacidad de ingresar a las células beta pancreáticas mediante los receptores Glut-2 y se acumula intracelularmente. Una vez dentro de estas produce un agente alquilante, el diazometano, que altera el transporte de glucosa, la actividad glucoquinasa, genera estrés oxidativo y rupturas múltiples en el DNA (Goyal et al., 2016; Islam & Wilson, 2012; Szkudelski, n.d.). Esto provoca la disfunción y destrucción selectiva de las células beta pancreáticas, lo cual se verá reflejado en una disminución de la acción de la insulina, un aumento de la glicemia y las consecuencias del estado hiperglicémico, como polidipsia y poliuria (Furman, 2021). Ahora, si bien este modelo puede asimilarse más a lo que veríamos en una DM1, podría mantener una pequeña población de células beta pancreáticas funcionales que van a secretar insulina, remedando la baja acción

de esta hormona que se da en la DM2. Por lo tanto, se establece este como un modelo de DM como tal en lugar de un tipo en específico, siendo más relevante las características que simula de esta patología. Las complicaciones cardiovasculares asociadas a la DM se pueden estudiar con diversos enfoques, para lo cual resulta fundamental utilizar herramientas que permitan evaluar de forma precisa las alteraciones que subyacen a estas. Entre estas tenemos el ecocardiograma (ECO) y la plataforma IonOptix, las cuales nos permitirán estudiar la función cardíaca desde diferentes perspectivas. El ECO es un procedimiento de imagenología médica que emplea ultrasonido de alta frecuencia para generar imágenes en tiempo real del corazón, haciendo posible estudiar la estructura y funcionamiento del corazón (S. H. Lee & Park, 2023). Específicamente, esta se basa en la emisión y recepción de ondas sonoras que, al interactuar con el tejido cardíaco, genera ecos que son interpretados para formar la imagen. El ECO dispone de una variedad de modalidades que nos entregaran información de diferentes parámetros, de las cuales aplicaremos ECO en modo bidimensional (modo 2D) y modo de movimiento (modo M). A partir de esto se obtienen datos como el diámetro de las cámaras cardíacas, el grosor de su pared, su longitud y su área, con lo que es posible determinar la fracción de acortamiento y la fracción de eyección para evaluar el estado

de la función cardíaca, e inferir el volumen ventricular en cada etapa. Respecto a la plataforma IonOptix, este un equipo multimodular que integra diferentes técnicas de análisis, incluyendo fluorescencia y captura de imágenes en tiempo real, mediante las cuales hace posible realizar mediciones precisas y detalladas asociadas a la contractilidad de cardiomiocitos aislados (Gorski et al., 2018). Concretamente, esta evalúa el AC-E en base a dos grandes parámetros, los transitorios de Ca^{2+} en el citosol y la longitud sarcomérica durante la contracción.

La aplicación de estas técnicas en un modelo murino requiere de ajustes específicos para maximizar la obtención de datos relevantes y garantizar su reproducibilidad, como también para asegurar la fiabilidad de la información obtenida. En el caso del ECO, es necesario emplear transductores de alta frecuencia, diseñados para animales pequeños, debido a su elevada frecuencia cardíaca y el reducido tamaño de su corazón (Silva et al., 2024). Además de esto, para realizar esta técnica es fundamental una sincronización precisa y un operador experimentado para capturar imágenes confiables. En cuanto a IonOptix, esta se adapta de manera óptima a modelos murinos al trabajar con cardiomiocitos. Estos se aíslan cuidadosamente usando el sistema de Lagendorff modificado, en el cual el corazón, se acopla a un equipo de perfusión

que hará circular una solución enzimática para disgregar las células (Lyu et al., 2022). En conjunto, estas técnicas entregan una evaluación integral, abarcando desde parámetros macroscópicos de la función cardíaca hasta mecanismos celulares específicos, reforzando su valor en el estudio de complicaciones CV, especialmente la MCD, en la cual se centra el presente estudio.

El uso de modelos murinos permite estudiar la función cardíaca y la fisiología de los cardiomiocitos mediante dichas herramientas tecnológicas. Para investigar la MCD en ratas, particularmente en hembras no menopáusicas, es necesario diferenciar entre adultas jóvenes (o premenopáusicas) y perimenopáusicas. Esta distinción puede establecerse utilizando ratas hembra de 4 meses (premenopáusicas), edad en la que presentan un ciclo estral regular, alta fecundidad y niveles hormonales estables, y ratas hembra de 9 meses (perimenopáusicas), momento en el que inicia la irregularidad del ciclo estral junto con una disminución progresiva de la función ovárica (Wooldridge et al., 2022; Yin et al., 2015). Durante dicha transición, que ocurre alrededor de los 8-9 meses, se observan fluctuaciones hormonales significativas, especialmente en los niveles de estrógenos (Ishii et al., 2012; Vidal, 2017). Por lo tanto, estas edades permiten estudiar el impacto de la DM sobre el efecto

cardioprotector de los estrógenos y el desarrollo de la MCD en un contexto fisiológicamente comparable al de mujeres adultas no menopáusicas.

Existe una brecha de conocimiento significativa sobre los diferentes componentes que se utilizan para el diagnóstico o parte de la patogénesis de la MCD en mujeres diabéticas (y modelos murinos), como la estructura y la función cardíaca; y esta brecha es aún mayor entre las mujeres diabéticas adultas no menopáusicas. Por ello, el estudio de estas alteraciones mediante modelos murinos ajustados a características específicas, como las ratas premenopáusicas y perimenopáusicas, en combinación con herramientas tecnológicas como el ecocardiograma y la plataforma IonOptix, representa un enfoque prometedor para llenar estas lagunas. Este abordaje permite evaluar de forma integral tanto los cambios estructurales como funcionales, ofreciendo datos clave que contribuyen a una comprensión más profunda de la MCD en esta población subrepresentada.

Perspectiva general

A partir de la problemática presentada, resulta evidente que el riesgo de ECV en mujeres diabéticas está poco estudiado en profundidad. A pesar de que las mujeres premenopáusicas poseen una protección natural debido a los efectos cardiovasculares de los estrógenos, esta

protección disminuye drásticamente gracias a la DM, aumentando significativamente la incidencia de ECV. Este cambio fisiológico destaca la importancia de investigar cómo las enfermedades metabólicas, como la DM, interfieren con este efecto protector antes de la menopausia.

Por otro lado, persiste una notable falta de inclusión del género femenino en estudios tanto clínicos como preclínicos relacionados con la DM y sus complicaciones a nivel cardiovascular. Esto ha generado una brecha de conocimiento que limita nuestra comprensión sobre cómo estas interacciones afectan de manera específica a las mujeres. En este contexto, se hace imperativo profundizar en investigaciones que aborden cómo la DM impacta el riesgo cardiovascular en mujeres no menopáusicas, proporcionando evidencia que permita desarrollar estrategias de prevención y tratamiento adaptadas a las necesidades de esta población. La inclusión del género como variable clave en los estudios sobre DM y complicaciones cardiovasculares es fundamental para garantizar una atención médica equitativa y basada en evidencia. En definitiva, comprender cómo la DM afecta la función cardíaca antes del desarrollo de ECV, específicamente durante la progresión de MCD utilizando un modelo murino de hembras no menopáusicas, no solo mejorará nuestra comprensión fisiopatológica del daño asociado a DM, sino

que también fomentará un estudio más integral y personalizado en la gestión de esta condición.

Objetivos

Objetivo general: Determinar el efecto de la DM sobre la función cardíaca in vivo e in vitro en ratas hembra pre y perimenopáusicas, y sobre el manejo cardíaco del Ca^{2+} citosólico.

Objetivos específicos:

- **Evaluar** la estructura y función cardíaca mediante ecocardiografía en ratas hembra adultas pre y perimenopáusicas, diabéticas y no diabéticas.
- **Evaluar** la longitud sarcomérica y los transitorios de Ca^{2+} en cardiomiocitos aislados de ratas hembra adultas pre y perimenopáusicas, diabéticas y no diabéticas.

Materiales y métodos

Modelo experimental

Se utilizaron ratas adultas hembra de la cepa Sprague-Dawley con un peso entre 250-300 g, las cuales se distribuyeron aleatoriamente en los grupos experimentales. Se definieron dos grupos de ratas de diferentes edades: un grupo de ratas premenopáusicas (4 meses) y un grupo de ratas perimenopáusicas (9 meses). Respecto a la inducción, la mitad de cada grupo se trató con una única inyección intraperitoneal de STZ en una dosis de 65

mg/kg de peso corporal, mientras que a la otra mitad solo se le administró buffer citrato 0,1M pH 4.5 (vehículo), siendo utilizado como un grupo control normoglicémico. Por lo tanto, se trabajó con cuatro grupos de ratas: 1- ratas premenopáusicas tratadas con STZ (n=5), 2- ratas premenopáusicas control (n=8), 3- ratas perimenopáusicas tratadas con STZ (n=4) y 4- ratas perimenopáusicas control (n=11). El primer día (antes de la inyección) y tres días después de la inducción de DM, se anestesió a las ratas con isoflurano, se pesaron y se realizó una punción en la vena lateral de la cola para medir su glicemia (glucómetro Accu-Chek Active, Roche Diagnostic Corporation), con el fin de determinar el efecto de la STZ. Se consideraron diabéticas aquellas que presentaron una glicemia igual o superior a 180mg/dl. Tras esto, la glicemia y el peso corporal se evaluó periódicamente para monitorear el desarrollo de DM. En el caso de detectar valores de glicemia superiores a 400 mg/dl, se administró insulina en una dosis de 4 UI (0,04 ml) para evitar el desarrollo de efectos adversos que puedan comprometer la integridad del animal. Las ratas se mantuvieron durante 12 semanas, tiempo en el cual ya se manifiestan cambios evidentes asociados a MCD y luego se sacrificaron como se describirá posteriormente. Todas las ratas se alojaron bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación, con agua y

comida (dieta estándar para roedores) ad libitum. En aquellas ratas donde no se desarrolló la condición tras la inyección, se procedió a aplicar nuevamente el tratamiento con STZ, por una sola vez máximo. Se excluyeron del estudio a las ratas que no desarrollen DM tras la intervención con STZ y a aquellas que presenten signos de estrés severo que no respondan a tratamiento de mitigación y/o signos de patologías severas.

Objetivo específico 1: Ecocardiograma

Tras 12 semanas de diabetes, las ratas se anestesiaron con isoflurano (2-5%), luego se rasuró su tórax y se aplicó una capa de gel de acoplamiento acústico para proceder a realizar ecocardiograma 2D y modo M con un ecocardiógrafo Vivid i comercial (General Electric, Milwaukee, Wisconsin), utilizando una sonda phased array de 11 MHz. El procedimiento se guió desde la vista paraesternal de eje corto y se midió mediante ecocardiografía en modo M el diámetro de la cavidad del VI y el grosor de sus paredes. La fracción de acortamiento y la fracción de eyección se estimó mediante la fórmula de Teichholz, y en base a este cálculo se infirieron los volúmenes del VI durante el ciclo cardíaco. La examinación fue guiada por el Dr. Rienzi Díaz-Navarro, médico cardiólogo especialista en ecocardiografía y co-tutor de la presente tesis.

Objetivo específico 2: Sistema IonOptix

Tras la realización del ecocardiograma se procedió con la cirugía para extraer el corazón (n=3 por grupo). Inmediatamente, este se lavó en solución de Tyrode cero calcio a 4°C para oxigenar el corazón y drenar la sangre. Tras esto, se canuló la aorta para acoplar el corazón a un sistema de perfusión de Lagendorff modificado, mediante el cual se hizo circular diferentes soluciones para llevar a cabo el aislamiento de cardiomiocitos. En primera instancia, se perfundió con solución de Tyrode cero Ca^{2+} 37°C, cuyo objetivo es crear un ambiente libre de Ca^{2+} para evitar contracciones descontroladas que puedan afectar la integridad de las células y limpiar remanentes de sangre en el corazón. Luego se continuó con una solución de colagenasa de tipo II para comenzar la digestión del corazón. Tras esto, se removió la base del corazón y el ventrículo derecho, y el VI se depositó en una segunda solución enzimática donde se terminó la disgregación mecánicamente. Posteriormente, esta solución se filtró utilizando una malla de 200 μm , se centrifugó y el pellet obtenido se incubó en un medio de cultivo específico de cardiomiocitos a 37°C. Finalmente, se agregó 1 μM de Fura-2 AM a la muestra de cardiomiocitos aislados y se cargaron en la cámara tisular del sistema IonOptix (IonOptix LCC) para medir la concentración citosólica de Ca^{2+} y las respuestas contráctiles (cambios en la longitud del sarcómero) ante estimulación de campo

eléctrico a 0,5 Hz. Los cardiomiocitos se perfundieron con solución de Tyrode con Ca^{2+} 1,8 mM a 37°C y aireada con una mezcla de gases de 21% O_2 - 5% CO_2 . Las mediciones de los transitorios de Ca^{2+} se determinó mediante la relación de intensidades de fluorescencia emitida a 510 nm (excitación a 340/380 nm). Se medirá la amplitud de las respuestas de Ca^{2+} , así como el área total bajo la curva de la respuesta transitoria, y se calculará el tiempo hasta el pico de concentración de Ca^{2+} y el tiempo de decaimiento (análisis pendiente). Las células se estimularon con pulsos de 15 V y 5 ms de duración administrados en tandas de 2s de duración a una frecuencia de 0,5 Hz utilizando el estimulador MyoPacer (IonOptix). La respuesta contráctil se determinó midiendo la longitud y la velocidad del acortamiento del sarcómero, calculadas en base a la transformación rápida de Fourier. Por último, se evaluó la sensibilidad de la respuesta contráctil a la concentración citosólica de Ca^{2+} a partir de gráficos de bucle de fase enfrentando la concentración citosólica de Ca^{2+} y la longitud del sarcómero.

Análisis estadístico

Para todos los objetivos específicos, se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. En base a esto, las comparaciones entre grupos se realizaron utilizando la prueba ANOVA de dos vías con su respectivo análisis post hoc

o, en caso de no cumplir la normalidad, su equivalente no paramétrico. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0.05$, con un error de tipo I de 0.05 y una potencia del 80%. El análisis se llevó a cabo utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 10.

Resultados y discusión

La STZ causó hiperglicemia en ratas de 4 y 9 meses

variables en las primeras semanas y la hiperglicemia se hizo consistente a partir de la quinta semana (Fig. 1A). Por su parte, las ratas de 9 meses presentaron una hiperglicemia que se estableció inmediatamente en la primera semana tras el tratamiento con STZ (Fig. 1A). Estos resultados concuerdan con lo expuesto por otros grupos de investigación, demostrando la efectividad del modelo (Sun et al., 2023; Xie et al., 2024; Zhao et al., 2014). Dicho

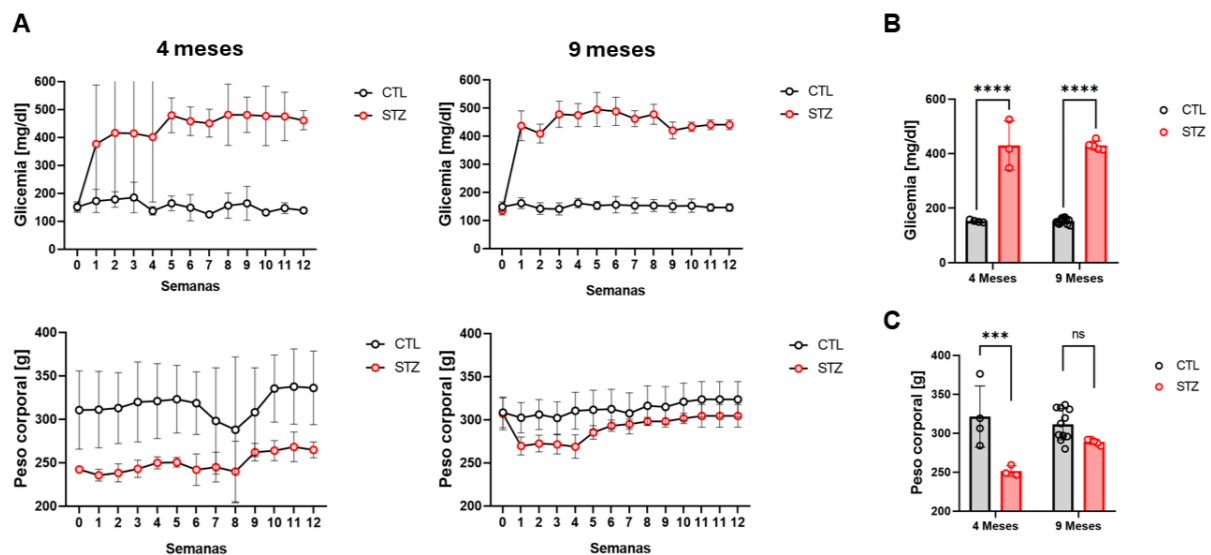


Figura 1. Monitoreo del tratamiento con STZ. A) Seguimiento de glicemia y peso por semanas; B) Análisis comparativo de la glicemia promedio; C) Análisis comparativo del peso corporal promedio. Análisis estadístico realizado con la prueba ANOVA de dos vías y la prueba post hoc de Sidak. CTL-4 meses $n = 8$; STZ-4 meses $n = 5$; CTL-9 meses $n = 11$; STZ-9 meses $n = 4$.

Se realizó seguimiento periódico de los valores de glicemia y peso corporal durante 12 semanas. Tras el tratamiento con STZ, se observó un aumento notorio de los valores de glicemia tanto en ratas de 4 meses como 9 meses. En las ratas de 4 meses, los valores de glicemia fueron

aumento fue significativo tanto ratas de 4 meses como de 9 meses (Fig. 1B). Respecto al peso corporal, se observó que las ratas de 4 meses tratadas con STZ tuvieron una pérdida significativa de peso, mientras que en las ratas de 9 meses no se hallaron cambios (Fig. 1A, 1C).

La hiperglicemia inducida por STZ altera la función cardíaca en ratas de 4 y 9 meses

La estructura y la función cardíaca se evaluó mediante ecocardiografía en modo M (guiada por modo 2D paraesternal del eje corto). En la examinación se hizo evidente un aumento del diámetro de la cavidad del ventrículo izquierdo de las ratas diabéticas en diástole (Fig. 2A), no obstante, dicho

aumento sólo fue significativo en el grupo de 4 meses (Fig. 2B). De forma similar, en sístole también se apreció un aumento del diámetro interno del ventrículo izquierdo (Fig. 2C), el cual fue significativo tanto en el grupo de 4 meses como en el de 9 meses (Fig. 2D). No se encontraron diferencias entre los cambios dados en el grupo de 4 y 9 meses.

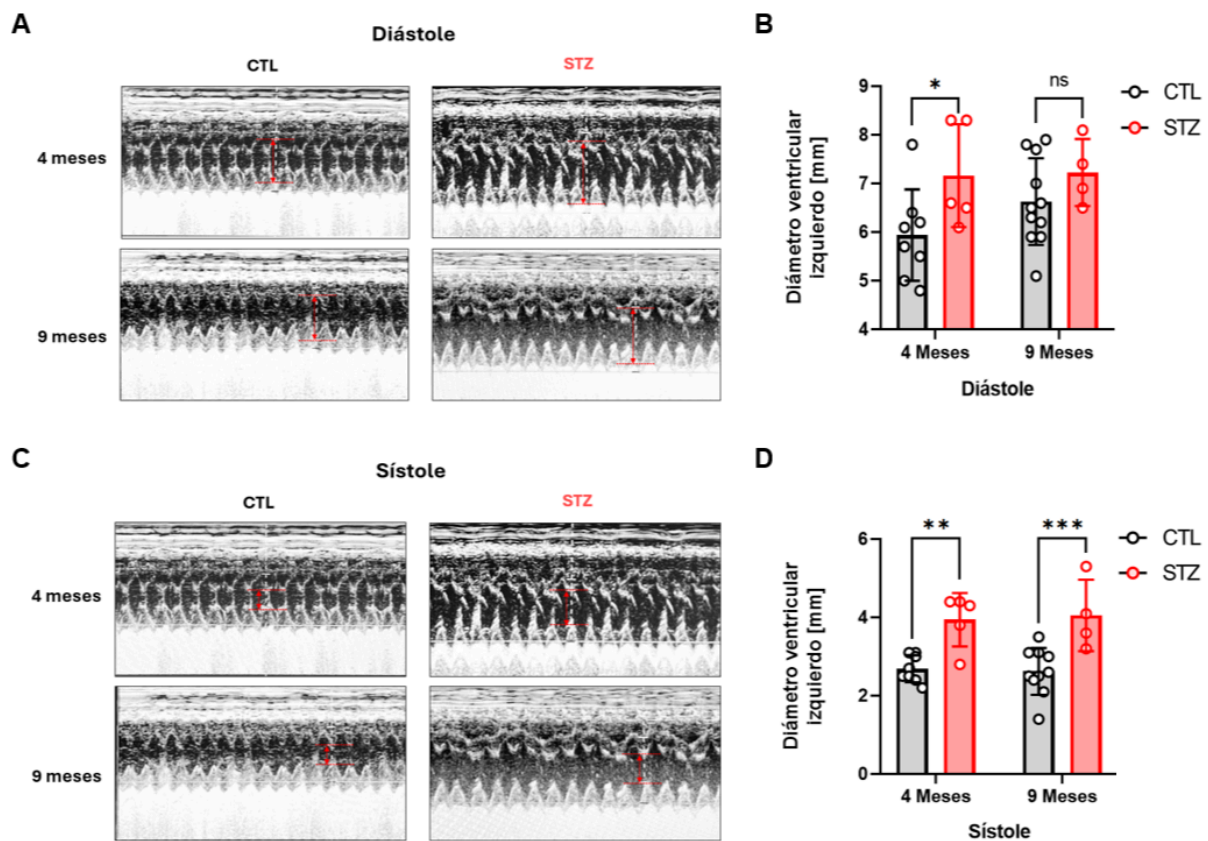


Figura 2. Ecocardiografía modo M y medición del diámetro interno del ventrículo izquierdo.

A) Imágenes representativas de las mediciones realizadas en diástole; B) Análisis comparativo del diámetro interno del ventrículo izquierdo promedio en diástole; C) Imágenes representativas de las mediciones realizadas en sístole; D) Análisis comparativo del diámetro ventricular izquierdo promedio en sístole. Análisis estadístico realizado con la prueba ANOVA de dos vías y la prueba post hoc de Sidak. CTL-4 meses n= 8; STZ-4 meses n=5; CTL-9 meses n=11; STZ-9 meses n=4.

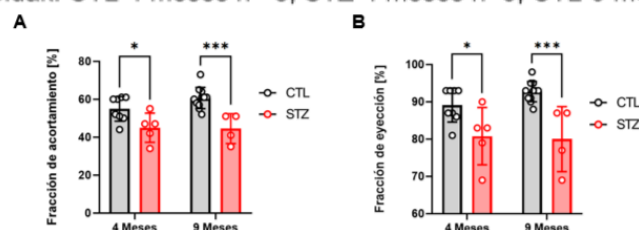


Figura 3. Parámetros ecocardiográficos. A) Fracción de acortamiento; B) Fracción de eyección cardíaca; C) Volumen telediastólico; D) Volumen telesistólico; E) Volumen sistólico. Cálculos realizados a través de la fórmula de Teichholz. Análisis estadístico realizado con la prueba ANOVA de dos vías y la prueba post hoc de Sidak. CTL-4 meses n= 8; STZ-4 meses n=5; CTL-9 meses n=11; STZ-9 meses n=4.

A partir de las mediciones del diámetro ventricular izquierdo en sístole y en diástole, se estimó la fracción de acortamiento y la fracción de eyección empleando la fórmula de Teichholz. Se determinó una reducción de la fracción de acortamiento (Fig. 3A) y de la fracción de eyección (Fig. 3B) en las ratas diabéticas de 4 y 9 meses, hallazgos consistentes con lo que se observa en pacientes humanos con MCD. De forma complementaria, se infirió con estos datos los volúmenes del ventrículo izquierdo durante el ciclo cardíaco. El volumen telediastólico se vio aumentado en las ratas diabéticas de 4 meses, no así en las ratas de 9 meses (Fig. 3C). Por su parte,

el volumen telesistólico aumentó en ratas diabéticas de 4 y 9 meses (Fig. 3D). En cuanto al volumen sistólico, no se evidenciaron cambios (Fig. 3E). Tras esto, se hizo una comparativa respecto a las edades y se determinó que no hubo diferencias asociadas al tratamiento con STZ entre ratas de 4 meses y de 9 meses. Estos resultados son comparables con otros estudios utilizando modelos murinos similares (Chandramouli et al., 2018; Loai et al., 2022; Sorrentino et al., 2017), lo que sugiere que la DM afecta igualmente la función cardíaca en hembras, independiente de la edad.

La hiperglicemia inducida por STZ

altero el manejo de calcio en cardiomiocitos de ratas de 9 meses

En la evaluación de la función cardíaca in vitro se utilizaron cardiomiocitos aislados, los cuales fueron analizados en la plataforma IonOptix en base a su respuesta contráctil y a los transitorios de Ca^{+2} citosólico.

De momento solo se dispone del análisis de cardiomiocitos de ratas de 9 meses, desde una perspectiva general. Viendo los gráficos, no se observan cambios en la longitud sarcomérica durante la contracción, pero se puede inferir un leve retraso en la relajación del cardiomiocito (Fig. 4A). Respecto a los transitorios de Ca^{+2} , se infirió su concentración en base a

la cantidad de Ca^{+2} intracelular. Los cardiomiocitos de ratas tratadas con STZ presentaron un transitorio aparentemente aumentado respecto al control (basado en el área bajo la curva; AUC), lo cual indica una alteración en el manejo de Ca^{+2} intracelular, posiblemente dado por una alteración en la recaptación de calcio tras la contracción (Fig. 4B).

Por último, al analizar el grafico de bucle de fase se puede observar un desplazamiento hacia la derecha en la curva de la condición diabética respecto a los controles, sugiriendo una disminución de la sensibilidad a Ca^{+2} , o bien, reforzando una posible alteración en la recaptación (Fig. 4C).

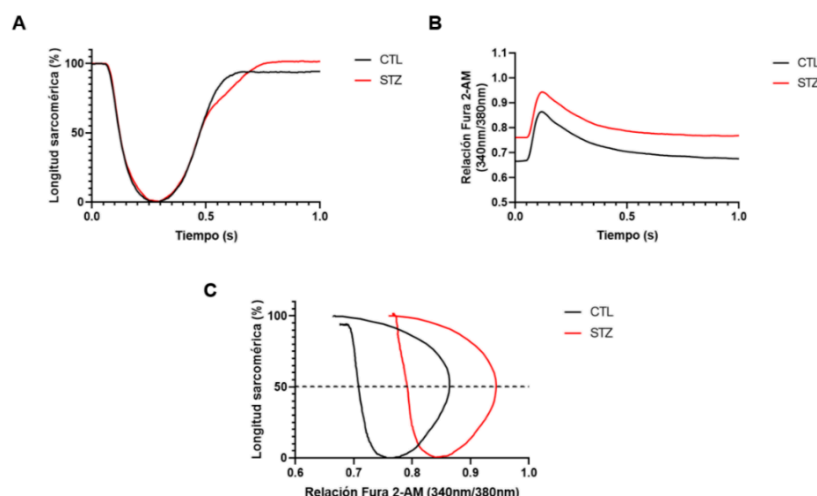


Figura 4. Acortamiento sarcomérico y transitorios de calcio citosólico en ratas de 9 meses.

A) Longitud sarcomérica normalizada respecto a valor máximo y mínimo alcanzado; B) Relación de intensidad de fluorescencia de Fura-2AM excitada a 340 y 380 nm; C) Gráfico de bucle de fase. CTL-9M n=3; STZ-9M n=3.

la relación de fluorescencia de Fura-2AM a 340nm/380, cuyo valor es proporcional a

A pesar de esto, la diferencia estadística no fue significativa, siendo esto de

momento una tendencia sugerente a dichas alteraciones, lo cual se podría consolidar considerando un mayor tamaño muestral. Para poder ahondar aún más en lo observado en la longitud sarcomérica y los transitorios de calcio, y analizar diferencias estadísticas entre cardiomiocitos diabéticos y control, es necesario estudiar parámetros más específicos como la amplitud del transitorio de Ca^{2+} , el tiempo para el pico y decaimiento de Ca^{2+} , velocidad de acortamiento, amplitud de contracción, entre otros; pendiente por ahora. No obstante, la dirección de los resultados obtenidos hasta el momento se condice con lo hallado en otras investigaciones similares (Ceylan-Isik et al., 2006; Sorrentino et al., 2017; Zhao et al., 2014), en los que se ha observado un manejo de calcio alterado que precede a la aparición de una disfunción contráctil más evidente en cardiomiocitos, por lo que estos hallazgos preliminares podrían representar una etapa temprana de deterioro funcional, relevante para comprender la progresión MCD y como la DM afecta la salud cardíaca en hembras.

Perspectivas futuras

A pesar de la limitación de este estudio de no evaluar la función cardíaca in vitro en ratas de 4 meses, en base a lo descrito por otros autores, es posible que proteínas claves en la regulación del $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$, tales como la expresión y

actividad de SERCA2a y su regulador fosfolambano (PLN) se encuentren desreguladas en ratas diabéticas premenopáusicas, independientemente de la edad biológica. Esto nos indicaría una visión de los mecanismos que subyacen a los efectos cardíacos que encontramos en este estudio que posiblemente estén asociados a una disminución de la actividad de SERCA2A por la reducción de su expresión y/o por el aumento de PLN. En conjunto, estas alteraciones podrían complementar los resultados vistos en IonOptix y sustentar la posible alteración en la recaptación del $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$.

Conclusión

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que la DM inducida por STZ en ratas hembra, tanto pre como perimenopáusicas, provoca una disfunción cardíaca significativa. Esta alteración podría estar relacionada con un manejo defectuoso del calcio intracelular, atribuible a una posible disminución en la expresión y actividad de SERCA2a. Aunque no se encontraron diferencias significativas en el AUC de los transitorios de $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cit}}$ ni en el gráfico de bucle de fase, los datos sugieren una tendencia hacia una alteración del acoplamiento excitación-contracción en ratas premenopáusicas.

Bibliografía

- Bers, D. M. (2002). Cardiac excitation–contraction coupling. *Nature*, 415(6868), 198–205. <https://doi.org/10.1038/415198a>
- Borghetti, G., von Lewinski, D., Eaton, D. M., Sourij, H., Houser, S. R., & Wallner, M. (2018). Diabetic Cardiomyopathy: Current and Future Therapies. Beyond Glycemic Control. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01514>
- Capdevila, J., Ducreux, M., García Carbonero, R., Grande, E., Halfdanarson, T., Pavel, M., Tafuto, S., Welin, S., Valentí, V., & Salazar, R. (2022). Streptozotocin, 1982–2022: Forty Years from the FDA's Approval to Treat Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology*, 112(12), 1155–1167. <https://doi.org/10.1159/000524988>
- Ceylan-Isik, A. F., Wu, S., Li, Q., Li, S.-Y., & Ren, J. (2006). High-dose benfotiamine rescues cardiomyocyte contractile dysfunction in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Applied Physiology*, 100(1), 150–156. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00988.2005>
- Chandramouli, C., Reichelt, M. E., Curl, C. L., Varma, U., Bienvenu, L. A., Koutsifeli, P., Raaijmakers, A. J. A., De Blasio, M. J., Qin, C. X., Jenkins, A. J., Ritchie, R. H., Mellor, K. M., & Delbridge, L. M. D. (2018). Diastolic dysfunction is more apparent in STZ-induced diabetic female mice, despite less pronounced hyperglycemia. *Scientific Reports*, 8(1), 2346. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20703-8>
- Cheng, Y., Dai, D., Ji, H., Zhang, Q., & Dai, Y. (2011). Sildenafil and FDP-Sr attenuate diabetic cardiomyopathy by suppressing abnormal expression of myocardial CASQ2, FKBP12.6, and SERCA2a in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 32(4), 441–448. <https://doi.org/10.1038/aps.2010.226>
- Devereux, R. B., Roman, M. J., Paranicas, M., O'Grady, M. J., Lee, E. T., Welty, T. K., Fabsitz, R. R., Robbins, D., Rhoades, E. R., & Howard, B. V. (2000). Impact of Diabetes on Cardiac Structure and Function. *Circulation*, 101(19), 2271–2276. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.19.2271>
- Eisner, D. A., Caldwell, J. L., Kistamás, K., & Trafford, A. W. (2017). Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circulation Research*, 121(2), 181–195.

- <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAH.A.117.310230>
- Fourny, N., Beauloye, C., Bernard, M., Horman, S., Desrois, M., & Bertrand, L. (2021). Sex Differences of the Diabetic Heart. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.661297>
- Furman, B. L. (2021). Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols*, 1(4). <https://doi.org/10.1002/cpz1.78>
- Gorski, P. A., Kho, C., & Oh, J. G. (2018). *Measuring Cardiomyocyte Contractility and Calcium Handling In Vitro* (pp. 93–104). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8597-5_7
- Goyal, S. N., Reddy, N. M., Patil, K. R., Nakhate, K. T., Ojha, S., Patil, C. R., & Agrawal, Y. O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes – A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 49–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>
- Hall, J. (2016). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica* (13ed ed.). ELSEVIER.
- Heidenreich, P. A., Bozkurt, B., Aguilar, D., Allen, L. A., Byun, J. J., Colvin, M. M., Deswal, A., Drazner, M. H., Dunlay, S. M., Evers, L. R., Fang, J. C., Fedson, S. E., Fonarow, G. C., Hayek, S. S., Hernandez, A. F., Khazanie, P., Kittleson, M. M., Lee, C. S., Link, M. S., ... Yancy, C. W. (2022). 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 145(18). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001063>
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas 10th edition*. www.diabetesatlas.org
- Iorga, A., Cunningham, C. M., Moazeni, S., Ruffenach, G., Umar, S., & Eghbali, M. (2017). The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy. *Biology of Sex Differences*, 8(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s13293-017-0152-8>
- Ishii, M., Yamauchi, T., Matsumoto, K., Watanabe, G., Taya, K., & Chatani, F. (2012). Maternal age and reproductive function in female

- Sprague-Dawley rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 37(3), 631–638.
<https://doi.org/10.2131/jts.37.631>
- Islam, Md. S., & Wilson, R. D. (2012). *Experimentally Induced Rodent Models of Type 2 Diabetes* (pp. 161–174).
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7_10
- Jeong, E.-M., & Dudley Jr, S. C. (2015). Diastolic Dysfunction. *Circulation Journal*, 79(3), 470–477.
<https://doi.org/10.1253/circj.CJ-15-0064>
- Jones, T. L. M., Kaur, S., Kang, N., Ruygrok, P. N., & Ward, M. (2023). Impaired calcium handling mechanisms in atrial trabeculae of diabetic patients. *Physiological Reports*, 11(3).
<https://doi.org/10.14814/phy2.15599>
- Kiencke, S., Handschin, R., von Dahlen, R., Muser, J., Brunner-LaRocca, H. P., Schumann, J., Felix, B., Berneis, K., & Rickenbacher, P. (2010). Pre-clinical diabetic cardiomyopathy: prevalence, screening, and outcome. *European Journal of Heart Failure*, 12(9), 951–957.
<https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfq110>
- Kierszenbaum, A. / T. L. T. (2012). *Histología y biología celular* (3ra ed.). Elsevier.
- Kranias, E. G., & Hajjar, R. J. (2012). Modulation of Cardiac Contractility by the Phospholamban/SERCA2a Regulator. *Circulation Research*, 110(12), 1646–1660.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.259754>
- Lacombe, V. A., Viatchenko-Karpinski, S., Terentyev, D., Sridhar, A., Emani, S., Bonagura, J. D., Feldman, D. S., Györke, S., & Carnes, C. A. (2007). Mechanisms of impaired calcium handling underlying subclinical diastolic dysfunction in diabetes. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(5), R1787–R1797.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00059.2007>
- Lee, S. H., & Park, J.-H. (2023). The Role of Echocardiography in Evaluating Cardiovascular Diseases in Patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes & Metabolism Journal*, 47(4), 470–483.
<https://doi.org/10.4093/dmj.2023.0036>
- Lee, W.-S., & Kim, J. (2021). Application of Animal Models in Diabetic Cardiomyopathy. *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(2), 129–145.
<https://doi.org/10.4093/dmj.2020.0285>
- Loai, S., Sun, X., Husain, M., Laflamme, M. A., Yeger, H., Nunes, S. S., &

- Cheng, H.-L. M. (2022). Microvascular Dysfunction in Skeletal Muscle Precedes Myocardial Vascular Changes in Diabetic Cardiomyopathy: Sex-Dependent Differences. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.886687>
- Lyu, Y., Timofeyev, V., Overton, J., Thai, P. N., Yamoah, E. N., Chiamvimonvat, N., & Zhang, X.-D. (2022). Protocol to record and quantify the intracellular pH in contracting cardiomyocytes. *STAR Protocols*, 3(2), 101301. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101301>
- Mascarenhas-Melo, F., Marado, D., Palavra, F., Sereno, J., Coelho, Á., Pinto, R., Teixeira-Lemos, E., Teixeira, F., & Reis, F. (2013). Diabetes abrogates sex differences and aggravates cardiometabolic risk in postmenopausal women. *Cardiovascular Diabetology*, 12(1), 61. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-12-61>
- Mayourian, J., Ceholski, D. K., Gonzalez, D. M., Cashman, T. J., Sahoo, S., Hajjar, R. J., & Costa, K. D. (2018). Physiologic, Pathologic, and Therapeutic Paracrine Modulation of Cardiac Excitation-Contraction Coupling. *Circulation Research*, 122(1), 167–183. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAH.A.117.311589>
- Ministerio de salud. (2018). *Informe Encuesta nacional de salud 2016-2017: Diabetes Mellitus*.
- OMS. (2023). *Diabetes*. Organización Mundial de La Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- PAHO. (2021). *Diabetes*. Organización Panamericana de La Salud. <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>
- Romero-García, T., Landa-Galvan, H. V., Pavón, N., Mercado-Morales, M., Valdivia, H. H., & Rueda, A. (2020). Autonomous activation of CaMKII exacerbates diastolic calcium leak during beta-adrenergic stimulation in cardiomyocytes of metabolic syndrome rats. *Cell Calcium*, 91, 102267. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102267>
- Siam, N. H., Snigdha, N. N., Tabasumma, N., & Parvin, I. (2024). Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Exploring Epidemiology, Pathophysiology, and Treatment Strategies. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 25(12).

- <https://doi.org/10.31083/j.rcm251243>
6
- Silva, J., Azevedo, T., Ginja, M., Oliveira, P. A., Duarte, J. A., & Faustino-Rocha, A. I. (2024). Realistic Aspects of Cardiac Ultrasound in Rats: Practical Tips for Improved Examination. *Journal of Imaging*, 10(9), 219. <https://doi.org/10.3390/jimaging10090219>
- Sorrentino, A., Borghetti, G., Zhou, Y., Cannata, A., Meo, M., Signore, S., Anversa, P., Leri, A., Goichberg, P., Qanud, K., Jacobson, J. T., Hintze, T. H., & Rota, M. (2017). Hyperglycemia induces defective Ca²⁺ homeostasis in cardiomyocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 312(1), H150–H161. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00737.2016>
- Sun, S., Yang, S., Zhang, N., Yu, C., Liu, J., Feng, W., Xu, W., & Mao, Y. (2023). Astragalus polysaccharides alleviates cardiac hypertrophy in diabetic cardiomyopathy via inhibiting the BMP10-mediated signaling pathway. *Phytomedicine*, 109, 154543. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154543>
- Suran, D., Sinkovic, A., & Naji, F. (2016). Tissue Doppler imaging is a sensitive echocardiographic technique to detect subclinical systolic and diastolic dysfunction of both ventricles in type 1 diabetes mellitus. *BMC Cardiovascular Disorders*, 16(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s12872-016-0242-2>
- Szkudelski, T. (n.d.). *The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas*. <http://www.biomed.cas.cz/physiolres/s.htm>Physiol.Res.50:536-546,2001
- Toedebusch, R., Belenchia, A., & Pulakat, L. (2018). Diabetic Cardiomyopathy: Impact of Biological Sex on Disease Development and Molecular Signatures. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00453>
- Vidal, J. D. (2017). The Impact of Age on the Female Reproductive System. *Toxicologic Pathology*, 45(1), 206–215. <https://doi.org/10.1177/0192623316673754>
- Ward, M.-L. (2014). Mechanisms underlying the impaired contractility of diabetic cardiomyopathy. *World Journal of Cardiology*, 6(7), 577. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i7.577>
- Wooldridge, A. L., Pasha, M., Chitrakar, P., Kirschenman, R., Quon, A., Spaans, F., Sáez, T., Cooke, C.-L.

- M., & Davidge, S. T. (2022). Advanced Maternal Age Impairs Uterine Artery Adaptations to Pregnancy in Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9191. <https://doi.org/10.3390/ijms23169191>
- Xie, L., Yu, Z.-Q., Zhang, R., Zhang, Z.-P., Zhang, Y., Jin, M.-Y., Ju, Y., Zhao, X.-H., & Guo, J.-P. (2024). Phloridzin prevents diabetic cardiomyopathy by reducing inflammation and oxidative stress. *European Journal of Pharmacology*, 984, 177032. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.177032>
- Yin, F., Yao, J., Sancheti, H., Feng, T., Melcangi, R. C., Morgan, T. E., Finch, C. E., Pike, C. J., Mack, W. J., Cadenas, E., & Brinton, R. D. (2015). The perimenopausal aging transition in the female rat brain: decline in bioenergetic systems and synaptic plasticity. *Neurobiology of Aging*, 36(7), 2282–2295. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.013>
- Yokoe, S., Asahi, M., Takeda, T., Otsu, K., Taniguchi, N., Miyoshi, E., & Suzuki, K. (2010). Inhibition of phospholamban phosphorylation by O-GlcNAcylation: implications for diabetic cardiomyopathy. *Glycobiology*, 20(10), 1217–1226. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwq071>
- Zarain-Herzberg, A., García-Rivas, G., & Estrada-Avilés, R. (2014). Regulation of SERCA pumps expression in diabetes. *Cell Calcium*, 56(5), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.09.005>
- Zarainherzberg, A., Yano, K., Elimban, V., & Dhalla, N. S. (1994). Cardiac Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase Expression in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 203(1), 113–120. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2156>
- Zhao, S.-M., Wang, Y.-L., Guo, C.-Y., Chen, J.-L., & Wu, Y.-Q. (2014). Progressive decay of Ca²⁺ homeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular Diabetology*, 13(1), 75. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-13-75>
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88–98.

<https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>.

Financiamiento: Este estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT de Iniciación N.º 11241417, otorgado por la

Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Chile. Investigadora responsable: Dra. Tamara Sáez.

Aprobación de bioética: BEA206-24, CICUAL Universidad de Valparaíso.

39. Salud humana

Prevalencia de infecciones vaginales en gestantes atendidas en el Hospital Regional de Concepción, Paraguay (enero 2020-diciembre 2024)

Autor: Gaona, Sofía; gaonasofi2@gmail.com

Orientador/a: Riquelme, Favio; fav-rique@hotmail.com

Universidad Nacional de Concepción

Resumen

Las infecciones vaginales en gestantes, debido a su gran incidencia, representan un problema de salud frecuente, no solo en nuestro país, sino a nivel mundial. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de infecciones vaginales en gestantes del Hospital Regional de Concepción (2020-2024). **Metodología:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal. La población incluyó 349 casos sobre un total de 8.387 gestantes atendidas, lo que representa una prevalencia de 4,1%. La recolección de datos se realizó mediante una observación directa de fichas perinatales, analizando las variables sociodemográficas, año de atención y complicaciones presentadas. **Resultados:** La mayoría de pacientes se encuentra en un grupo etario de 30 a 34 años (27,2%). En 2024 se evidenció la cifra más elevada de casos (20,9%) pero sin encontrar diferencias significativas entre los otros años estudiados. La distribución por zona geográfica indicó que la proporción predominante de los casos se presentó mayormente en una zona urbana (54,1%). Entre las complicaciones se presentaron: ruptura prematura de membrana (16,1 %), parto prematuro (14,8 %), bajo peso al nacer (9,6%) y aborto (6,3%) **Conclusión:** Este estudio evidenció una baja prevalencia de las infecciones vaginales en gestantes. Se recomienda mantener las atenciones prenatales actualmente implementadas, dada su efectividad aparente.

Palabras Clave: Prevalencia, infección vaginal, gestantes.

Introducción

Las infecciones vaginales son generadas por un desequilibrio en el ecosistema vaginal, caracterizado por un flujo vaginal anormal, prurito vulvar, ardor, disuria, dispareunia y /o fetidez vaginal, que dependen del agente etiológico (Leon Pastuso et al., 2023). Estas afectan a mujeres de todos los grupos de edad, principalmente en edad fértil (Cajilema Tene, 2024).

Durante la gestación, la depresión inmunológica de este estado, favorece la aparición de un mayor número de infecciones vaginales (Chávez Vivas et al., 2020). Constituyendo un factor de riesgo para futuras complicaciones materno-fetales, como parto pretérmino, rotura prematura de membranas, abortos y un bajo peso al nacer (Jordán Kehrt, 2023). Por ello, el diagnóstico precoz constituye una herramienta efectiva para evitar complicaciones.

Por medio de análisis de varios estudios, un factor resaltante para la aparición de infecciones vaginales, es el inicio temprano de relaciones sexuales que, a causa de una desinformación de métodos de prevención, desembocaría en un posible embarazo, y, por ende, en infecciones vaginales (Zavala Hoppe et al., 2024). Adicionalmente, se ha demostrado que las infecciones vaginales incrementan el riesgo de adquirir otras infecciones de transmisión sexual (Viera

Muñiz, Lores Delgado, García Falcón, Tejeda Dilou & Clapé Laffita, 2022), debido a que la microbiota vaginal y las infecciones poseen una interacción recíproca y compleja (Gavilanes Saenz & Belalcazar Sánchez, 2025).

Muchas mujeres no acceden regularmente a los controles prenatales debido a condiciones sociodemográficas desfavorable (Ipia-Ordóñez et al., 2019), lo cual aumenta las posibilidades de que las infecciones vaginales pasen desapercibidas, y, en consecuencia, aumenta la probabilidad de futuras complicaciones.

Este se ha convertido en un problema de salud debido a su incidencia, no solo a nivel país, sino a nivel mundial.

A nivel mundial, la Vaginosis bacteriana es una causa muy frecuente de flujo vaginal anormal en las mujeres en edad reproductiva, con una frecuencia que oscila entre el 23% y el 29% (Organización Mundial de la Salud, 2024). En Madrid, España se realizó una investigación con el fin de identificar mujeres con flora anormal durante el primer trimestre de gestación, utilizando una metodología unicéntrica observacional prospectiva. Este dio como resultado que un 27,2% de su población tuvieron una flora anormal y presentaba un riesgo 5 veces superior de padecer complicaciones (Toboso Silgo, 2022).

En América latina, las infecciones vaginales representan un desafío para la salud pública, debido a que las mujeres en edad reproductiva muestran una mayor prevalencia (Pérez, 2023). En Ecuador, se realizó un estudio con el objetivo de conocer la prevalencia de infecciones vaginales en mujeres embarazadas, la relación entre la infección vaginal y las complicaciones de aborto. Con una metodología descriptiva de diseño documental, se obtuvo como resultado una relación existente entre las infecciones vaginales y las complicaciones de aborto. Además, obtuvo que los principales factores de riesgo son el inicio precoz de relaciones sexuales, malos hábitos de higiene y tener más de dos parejas sexuales (Ponce Miranda & Vásquez Jaramillo, 2023).

En Paraguay, existe un posible desconocimiento sobre prácticas adecuadas de higiene y prevención de infecciones (Toffoletti & Pérez Velilla, 2024). Un estudio realizado en un hospital público del Paraguay, tuvo como objetivo, el investigar la presencia de infecciones vaginales en embarazadas que consultaron en este nosocomio. Con una metodología descriptiva, observacional y de corte transversal, obtuvieron como resultados que las infecciones vaginales se asociaron a abortos y otras complicaciones obstétricas, siendo más frecuentes en adolescentes y vinculadas

al inicio temprano de la actividad sexual (Toffoletti et al., 2024).

A nivel departamental, no se dispone de estudios sistemáticos, publicados y actualizados. Esto puede ocasionar una brecha entre el sistema de salud y las necesidades reales de la población, dificultando el diseño de estrategias adecuadas de educación y prevención.

Conocer la prevalencia no solo nos dará una idea para dimensionar la magnitud del problema, sino que también nos puede proporcionar una base real para futuras estrategias de prevención.

Este estudio busca aportar información relevante y actualizada. Que pueda contribuir a la prevención, control y atención temprana de las infecciones vaginales, fortaleciendo así la atención prenatal de la región.

Objetivo general

Determinar la prevalencia de infecciones vaginales en gestantes atendidas en el Hospital Regional de Concepción, Paraguay, desde enero del año 2020 a diciembre del año 2024.

Objetivos específicos

- 1- Identificar los datos sociodemográficos de las gestantes con infecciones vaginales que fueron atendidas en el Hospital Regional de Concepción en el periodo 2020-2024.
- 2- Diferenciar la frecuencia de infecciones vaginales entre las

gestantes provenientes de zonas rurales y urbanas atendidas en el Hospital Regional de Concepción, en el periodo 2020-2024.

- 3- Describir las complicaciones más frecuentes presentadas en las gestantes con infecciones vaginales que fueron atendidas en el Hospital Regional de Concepción en el periodo 2020-2024.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio con un enfoque cuantitativo, con un diseño observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal. La población estuvo conformada por 349 gestantes que consultaron en el Hospital Regional de Concepción en el periodo 2020-2024. Se realizó una muestra por conveniencia, debido a que se trabajó con la totalidad de los casos disponibles que cumplían con los criterios de inclusión y exclusión.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes embarazadas de cualquier edad gestacional que consultaron en el Hospital Regional de Concepción en el periodo de 2020-2024, con fichas perinatales completas que contengan los datos requeridos y legibles. Los criterios de exclusión constituyeron: pacientes embarazadas con fichas perinatales incompletas o ilegibles.

Para la recolección de datos se utilizó una técnica de observación directa de fichas perinatales. Al registrar las variables de interés se utilizó una planilla de verificación en hoja de cálculo en formato de Excel, diseñada para el estudio.

Las variables de interés incluyeron los datos sociodemográficos, año de atención y las complicaciones presentadas.

El análisis de datos se realizó mediante el programa de Excel, presentando en forma de tablas y gráficos, para una mejor interpretación y comparación de resultados.

Se tuvieron en cuenta los principios éticos de Belmont (Sánchez López et al., 2021), el respeto a la persona, cuidando su confidencialidad y anonimato. El estudio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Concepción.

Resultados

1. **Determinar la prevalencia de infecciones vaginales en gestantes atendidas en el Hospital Regional de Concepción, Paraguay, desde enero del año 2020 a diciembre del**

año 2024.

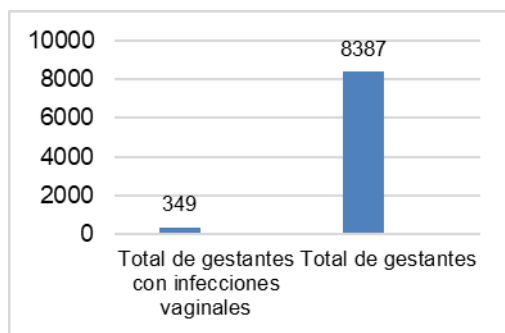


Figura 1: Cantidad de gestantes atendidas en el Hospital Regional de Concepción entre 2020-2024.

En esta primera figura se observó que, durante ese lapso, un total de 8.387 gestantes recibieron atención en el hospital. De este grupo, 349 gestantes presentaron infecciones vaginales, indicando una prevalencia del 4,1 %. Esto indica que, cada 100 gestantes atendidas aproximadamente 4 presentaron algún tipo de infección vaginal.

2. Datos sociodemográficos de las gestantes con infecciones vaginales que fueron atendidas en el Hospital Regional de Concepción en el periodo 2020-2024.

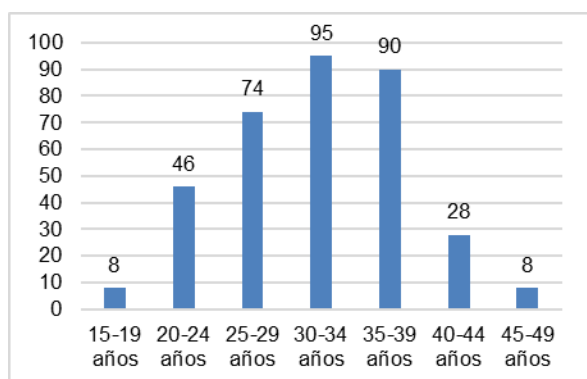


Figura 2: Distribución por grupo etario.

El gráfico mostró que, la mayoría de las pacientes se encontraron en un grupo etario de 30-34 años de edad, con un total de 95 casos (27,2%). Seguido por el grupo etario de 35-39 años, con un total de 90 casos (25,7%). El grupo con menor número fue el de 15-19 años y 45-49 años, con un total de 8 casos cada uno (2,2%). Se observó una proporción similar de casos entre el rango de 25-39 años de edad.

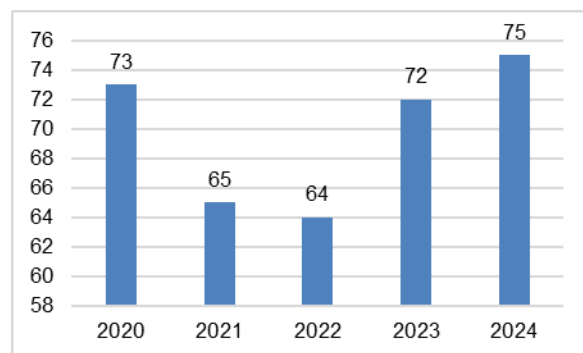


Figura 3: Distribución por año de atención.

En el gráfico se observó que, en 2024 se registró el mayor número de casos, con un total de 75 (21,4%). Seguido por los años 2020 y 2023, con un total de casos de 73 (20,9%) y 72 (20,6%) respectivamente. El año con un menor número de casos fue el 2022, con un total de 64 (18,3%). Se evidenció que no hay una diferencia significativa de casos entre los años estudiados.

3. Frecuencia de infecciones vaginales entre las gestantes provenientes de zonas rurales y urbanas atendidas en el Hospital

Regional de Concepción, en el periodo 2020-2024.

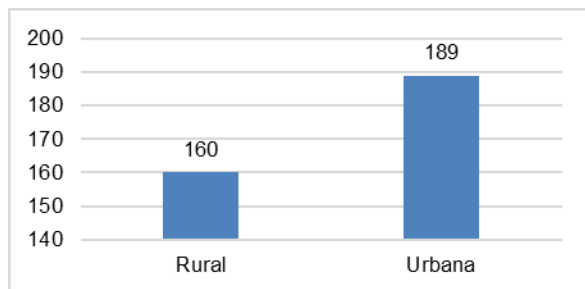


Figura 4: Distribución por zona geográfica (rural o urbana).

El grafico mostró que, la mayoría de los casos son provenientes de la zona urbana, con un total de 189 (54,1%). En contraste, hubo una minoría de 160 casos (45,8%) de zona rural.

4. Complicaciones más frecuentes presentadas en las gestantes con infecciones vaginales que fueron atendidas en el Hospital Regional de Concepción en el periodo 2020-2024.

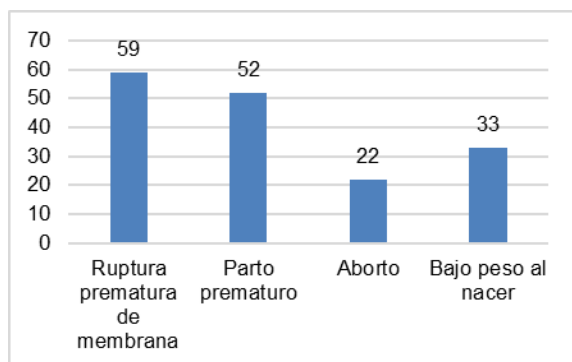


Figura 5: Distribución por complicaciones materno-fetales.

Entre las principales complicaciones causadas a la madre, predominó la ruptura prematura de membrana, con un total de 59 casos (16,9%), seguida por

parto prematuro, teniendo un total de 52 casos (14,8%) y aborto, con un total de 22 casos (6,3%). Como principal complicación en el recién nacido, se presentó un bajo peso al nacer, siendo un total de 33 casos (9,6%).

Discusión

Los hallazgos de este estudio evidencian que no existe una alta prevalencia de infecciones vaginales en gestantes en el Hospital Regional de Concepción. La prevalencia observada fue del 4,1%, esto equivaldría a que cada 100 gestantes que acudieron a sus controles perinatales, 4 de ellas presentaron algún tipo de infección vaginal. La prevalencia hallada resultó ser menor a la esperada, en comparación a estudios similares, en donde se reportaba una prevalencia del 11,5 % (Toffoletti et al., 2024).

En contraste a lo encontrado en otros estudios, en los que predominaban mujeres de entre 18 a 24 años (Toffoletti et al., 2024). Este estudio obtuvo una mayor frecuencia de infecciones vaginales en un grupo etario de gestantes de entre 30 a 34 años. Con una proporción similar de casos entre gestantes de 25 a 39 años de edad.

Durante el periodo de tiempo investigado, se encontró que el año 2024 obtuvo la cifra más elevada de casos, de manera opuesta, se registra que el 2022 fue el año con el menor número de casos

registrados. Sin embargo, se destaca que las variaciones entre los años estudiados no presentan diferencias significativas.

En este estudio se observa que, la mayoría de las mujeres son provenientes de una zona urbana, esto podría sugerir que las condiciones sociodemográficas limitan el acceso adecuado a servicios de salud. Coincidiendo con investigaciones similares previas en otra área del país (Toffoletti & Pérez Velilla, 2024).

En cuanto a las complicaciones materno-fetales, estudios previos coinciden con los resultados obtenidos (Toffoletti & Pérez Velilla, 2024). De las cuales, las complicaciones predominantes fueron: la ruptura prematura de membrana, parto prematuro, aborto y bajo peso al nacer

Conclusión

En base a los resultados obtenidos, se pudo determinar que, existe una baja prevalencia en comparación a la reportada en estudios realizados en otras regiones del país. A pesar de esto, es fundamental mantener estrategias de prevención y diagnóstico precoz en la atención prenatal, para así evitar futuras complicaciones materno-fetales. La diferencia de distribución por zona geográfica, evidenció una mayor frecuencia de infecciones vaginales en la zona urbana. Esto podría estar relacionado a factores como las diferencias de acceso y demanda de los

servicios de salud. Se recomienda profundizar en estudios que analicen los factores socio ambientales y conductuales asociados a este hallazgo.

Las complicaciones vaginales reportadas en este estudio, coinciden con los estudios realizados en otras zonas del país.

A lo largo del periodo analizado, la prevalencia de infecciones vaginales en gestantes fue baja y se mantuvo relativamente constante, esto sugiere que existe una atención prenatal estable en la región.

Finalmente, se recomienda no modificar las atenciones prenatales que se vienen desarrollando, dada su efectividad aparente.

Referencias bibliográficas

Cajilema Tene, G. A. (2024). Prevalencia de infecciones vaginales en mujeres jóvenes durante la edad reproductiva de la parroquia Punín (Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). Recuperado de <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/22627>

Chávez Vivas, M., García Blanco, L., Chaves Sotelo, J., Duran, K., & Ramírez, J. (2020). Prevalencia de infecciones vaginales en mujeres embarazadas y no embarazadas en un hospital de Cali, Colombia. *Revista Ciencias Biomédicas*, 9(2), 92–102.

<https://revistas.unicartagena.edu.co/index.php/cbiomedicas/article/view/3157>

Gavilanes Saenz, B. S., & Belalcazar Sánchez, Y. M. (2025). Relación entre la microbiota vaginal y las infecciones vaginales de mujeres en edad fértil. *Ciencia y Educación*, 601–613. <https://cienciayeducacion.com/index.php/journal/article/view/zenodo.15635898>

Ipia-Ordóñez, N. V., Ortega-Vallejo, D. F., Acosta-Mora, P. A., López-Lasso, W. A., Martínez-Rodríguez, J. E., Corrales-Zúñiga, N. C., ... Cedeño-Burbano, A. A. (2019). Impacto de las condiciones sociodemográficas sobre el control prenatal en Latinoamérica. *Revista de la Facultad de Medicina*, 67(3), 331-335. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7090921>

Jordán Kehrt, M. B. (2023). Características clínicas, diagnósticas, abordaje terapéutico de las principales infecciones vaginales y complicaciones en el embarazo. *Revista Diversidad Científica*, 3(2), 301–307. <https://revistadiversidad.com/index.php/revista/article/view/101>

Leon Pastuso, P., Liñán-Bermúdez, A., Chafloque Chavesta, J. J., Solís Cortez, R., González-Blanco, M., & Barja-Ore, J.

(2023). Síndrome de flujo vaginal en el embarazo: factores de riesgo asociados. *Revista De Obstetricia Y Ginecología De Venezuela*, 82(4), 429–436. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ogv/article/view/26303

Organización Mundial de la Salud. (2024). Vaginosis bacteriana. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/bacterial-vaginosis>

Pérez, M. L. (2023). Estrategias pedagógicas para el aprendizaje significativo en estudiantes de primaria (Tesis de licenciatura, Universidad Estatal del Sur de Manabí). Recuperado de <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/3751>

Ponce Miranda, V. A., & Vásquez Jaramillo, P. A. (2023). Estudio citobacteriológico de infecciones vaginales en mujeres embarazadas y su relación con abortos. *Revista Polo del Conocimiento*, 8(4). <https://polodeloconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/5369>

Sánchez López, J. D., Cambil Martín, J., & Luque Martínez, F. (2021). Informe Belmont. Una crítica teórica y práctica actualizada. *Journal of Healthcare Quality Research*, 36(3), 179-180. <https://doi.org/10.1016/j.jhqr.2020.01.011>

Toboso Silgo, L. (2022). Determinación de prevalencia de infecciones vaginales y endocervicales durante el primer trimestre en gestaciones únicas controladas en Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda (Tesis de grado, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda). Recuperado de <https://portalcienciaytecnologia.jcyl.es/documentos/64651397c725e9030e1fc283>

Toffoletti, P., & Pérez Velilla, M. A. (2024). Caracterización de los principales agentes patógenos causantes de infecciones vaginales en gestantes atendidas en un Hospital Distrital de Paraguay, febrero a junio de 2023. *Rev Hisp CiencSalud*, 10(3), 141-148. <https://mail.uhsalud.com/index.php/revhispano/article/view/812/424>

Toffoletti, P., Pérez, M. A., Wannis, L., Recalde Sckell, D., Mendes dos Santos, G., Cardoso Feitosa, L., Quito de Nascimento, R. C., & Santos da Silva, R. (2024). Infecciones vaginales en gestantes de un hospital público de Paraguay. *Academic disclosure*, 7(1), 1-7. <https://revistascientificas.una.py/index.php/rfenob/article/view/4836>

Viera Muñiz, M., Lores Delgado, D., García Falcón, D., Tejeda Dilou, Y., & Clapé Laffita, O. (2022). Intervención

educativa en gestantes con vaginosis bacteriana en el área de salud Julián Grimaú García. *Orange Journal*, 4(7), 70-78.

<https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2022.7.06>

Zavala Hoppe, A. N., Pin Pillasagua, A. D., Mina Barreto, M. J., & Gordillo Armijos, E. G. (2024). Factores de riesgo y diagnóstico diferencial en pacientes con infección vaginal en países de Latinoamérica. *Revista Polo del Conocimiento*, 9(3). <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/6869>

42.- Microbiología Molecular

El ejercicio aeróbico de corta duración desencadena mecanismos adaptativos cardíacos en la obesidad

Autor: Pereira, Gustavo José de Sá; E.mail: g201413@dac.unicamp.br

Co-autor(es): Canciglieri, Raphael S.; Braga, Renata R.; Campos, Thais D. P.; Fernandes, Célio J. C.; Melo, Diego G.; Rodrigues, Vivian C. C.

Orientador: Moura, Leandro; P. E. mail: mouralp@unicamp.br

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) / Faculdade de Ciências aplicadas

Resumen

Objetivos: Investigar las adaptaciones bioenergéticas y apoptóticas en el cardiomiocito en un organismo obeso tras 15 sesiones de ejercicio aeróbico, independientemente de alteraciones en el peso corporal. **Métodos:** Ratones Swiss machos: Control (CT), Obeso sedentario (OB) y Obeso ejercitado (OBA). La obesidad fue inducida por una dieta hiperlipídica (20 semanas). El grupo OBA fue sometido a ejercicio aeróbico en cinta (15 sesiones). Se analizaron la glucemia en ayunas, ITT (AUC), respirometría de alta resolución (O2k), RT-qPCR, Western Blot y RNA-Seq utilizando GSE161052. **Resultados:** Apenas 15 sesiones mejoraron hiperglucemia y sensibilidad a la insulina sin alterar masa corporal. Metabolismo: El ejercicio redujo la proteína lipogénica (ACC) y aumentó proteínas cruciales en el suministro de sustrato energético (PDH, CPT1A). Adaptaciones mitocondriales: OBA retornó a niveles basales el contenido proteico de UCP2, aumentó significativamente subunidades de los complejos I y IV de OXPHOS, incrementó el consumo de oxígeno mitocondrial (O2k) del complejo II y la respiración basal, pero sin alteraciones significativas de fuga de protones ni de síntesis de ATP (ATP-linked). Apoptosis: Caspase-8, BID y BCL-2 permanecieron estables en todos los grupos; hubo aumento de Bax en el grupo OB y reducción de BCL-XL en OB y OBA. Finalmente, MTCH2, proteína de la membrana mitocondrial externa, proapoptótica y reguladora de la homeostasis energética, presentó aumento en OB y reducción en OBA. **Conclusión:** El ejercicio aeróbico de corta duración revirtió disfunciones glucémicas y remodeló la bioenergética cardíaca en la obesidad, iniciando mecanismos adaptativos mitocondriales y metabólicos antes de cambios ponderales en el peso.

Palabras clave: Obesidad, Ejercicio, Corazón.

Introducción

El ejercicio físico se describe ampliamente como un factor protector para el sistema cardiovascular, promoviendo mejoras en la función endotelial, el control glucémico y la contractilidad miocárdica (Hastings et al., 2024; Ma et al., 2015; Thijssen et al., 2022). Sin embargo, a pesar de sus efectos beneficiosos, el ejercicio también puede actuar como un estresor fisiológico agudo, induciendo cambios hemodinámicos, metabólicos y oxidativos, especialmente cuando se aplica a organismos con condiciones preexistentes, como la obesidad (Geng et al., 2025).

En este contexto, el tejido cardíaco requiere adaptaciones rápidas y eficientes, especialmente a nivel celular. La obesidad se asocia con diversas disfunciones mitocondriales, como la reducción de la eficiencia bioenergética, la acumulación de especies reactivas de oxígeno, la hiperglucemia sostenida, la inflamación leve y la activación de vías proapoptóticas (de Mello et al., 2018). La aplicación de ejercicio en organismos obesos, por lo tanto, puede provocar una respuesta adaptativa de naturaleza paradójica: si bien representa un desafío fisiológico, también puede activar mecanismos de protección mitocondrial y restaurar la función celular comprometida (Amar et al., 2024; Townsend & Steinberg, 2023). Sin embargo, los efectos iniciales y tempranos de este estímulo,

particularmente en tejidos altamente dependientes del metabolismo oxidativo, como el corazón, siguen siendo poco conocidos, especialmente en ausencia de pérdida de peso.

Así, el objetivo del presente estudio fue investigar las adaptaciones bioenergéticas y apoptóticas en los miocitos cardíacos en organismos obesos después de 15 días de ejercicio aeróbico, independientemente de los cambios en el peso corporal.

Materiales y métodos

RNA-seq y enriquecimiento funcional

Los datos brutos de GSE161052 fueron procesados en R (v.2024.12.1+563). Las cuentas fueron filtradas ($CPM > 0,5$ en ≥ 2 muestras), normalizadas mediante el método TMM (edgeR) y anotadas con la base org.Mm.eg.db. La información de caracterización de las muestras se obtuvo del estudio original (C. Wei et al., 2022). El análisis de expresión diferencial entre DCM (ratones con enfermedad cardíaca diabética) y CT (grupo de control) se realizó con DESeq2, aplicando shrinkage en el $\log_2FC$ y corrección por pruebas múltiples mediante el método de Benjamini–Hochberg (FDR). Los genes diferencialmente expresados fueron representados en gráficos de volcán y paneles dirigidos a blancos metabólicos,

apoptóticos y mitocondriales. El enriquecimiento funcional se llevó a cabo con Gene Ontology – Biological Process utilizando el paquete clusterProfiler, con visualización en gráficos de burbujas (bubble plots) y complementado con gráficos tipo lollipop para genes de la vía apoptótica.

Animales y diseño experimental

Ratones Swiss machos (5 semanas) fueron obtenidos del CEMIB–UNICAMP. Fueron alojados individualmente bajo temperatura controlada (21 ± 2 °C), humedad de $50 \pm 10\%$ y ciclo claro/oscuro de 12 h. El agua y la dieta fueron ofrecidas ad libitum. El protocolo fue aprobado por la CEUA-UNICAMP (nº 6244-1/2023). Los animales (n=7 por grupo) fueron divididos en:

- **CT (Control):** dieta estándar, sin ejercicio;
- **OB (Obeso sedentario):** dieta hiperlipídica, sin ejercicio;
- **OBA (Obeso ejercitado):** dieta hiperlipídica asociada al ejercicio aeróbico.

Dieta hiperlipídica

El grupo CT recibió dieta estándar comercial (Nuvital®, Quimtia). Los grupos OB y OBA fueron alimentados con una dieta hiperlipídica modificada, basada en la formulación AIN-93 (Reeves et al., 1993),

ajustada para contener 35% de lípidos totales (312 g de manteca de cerdo + 40 g de aceite de soya por kg de dieta).

Protocolo de ejercicio físico

Tras la inducción de la obesidad, los animales pasaron por 5 días de adaptación a la cinta. La intensidad fue prescrita en base a una prueba de velocidad máxima individual (Ferreira et al., 2007). El entrenamiento aeróbico consistió en 15 sesiones de 60 minutos (de lunes a viernes), realizadas al 75% de la velocidad máxima, a lo largo de 3 semanas consecutivas.

Glucemia en ayunas

La glucosa sanguínea fue medida tras un ayuno de 5 horas, mediante punción caudal, con glucómetro (Advantage®, Boehringer Mannheim, EUA) (Benhamed et al., 2012; Carper et al., 2020).

Prueba de tolerancia a la insulina (ipITT)

El ipITT se realizó 8 horas después de la 13ª sesión de ejercicio. Tras un ayuno de 5 horas, los animales recibieron insulina (1 U/kg, i.p.), y se recogieron muestras en los tiempos 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min (Accu-Chek®, Roche). El área bajo la curva de glucosa (AUC) se calculó por el método trapezoidal en Microsoft Excel®. (Carper et al., 2020).

Respirometría de alta resolución

La función mitocondrial fue evaluada con el Oxygraph-2k (Oroboros Instruments, Austria), utilizando fibras permeabilizadas del ventrículo izquierdo. Se analizaron los flujos respiratorios de los complejos I y II, la fosforilación oxidativa, el acoplamiento mitocondrial y la respiración residual.

Recolección y almacenamiento de tejidos

Tras un ayuno de 8 horas, los animales fueron anestesiados (quetamina, 100 mg/kg, i.p.) y eutanasiados conforme a las directrices éticas. Los animales del grupo OBA fueron eutanasiados 8 horas después de la última sesión de ejercicio. Muestras de corazón y suero fueron congeladas a -80°C .

Western blotting

El tejido cardíaco fue homogeneizado a 4°C . La concentración proteica se determinó por Bradford, y los extractos (60 μg) fueron sometidos a SDS-PAGE y transferidos a membranas de nitrocelulosa. Las membranas fueron incubadas con anticuerpos específicos y reveladas por quimioluminiscencia (Walker, n.d.). El análisis densitométrico se realizó con el software ImageJ 2.

PCR en tiempo real (qPCR)

El ARN total fue extraído con TRIzol® (Invitrogen), y el cDNA sintetizado con SuperScript® III. Las reacciones de qPCR se realizaron con SYBR Green (GoTaq®, Promega) y cebadores específicos (Exxtend®), bajo condiciones de ciclado optimizadas.

Resultados

Para ampliar la interpretación de nuestros hallazgos en el modelo de obesidad inducida por dieta, investigamos el perfil transcriptómico de cardiomiocitos de con miocardiopatía diabética (DCM), a través del banco de datos generado por el estudio de C. Wei et al. (2022) (GSE161052). Esta condición representa una etapa avanzada de disfunción metabólica en el corazón, caracterizada por una resistencia a la insulina exacerbada independiente de la hipertensión y de la enfermedad coronaria (Tan et al., 2020). Consideramos este modelo como una progresión natural del fenotipo observado en nuestro modelo experimental, lo que permitió identificar qué vías metabólicas y apoptóticas se encuentran más profundamente moduladas. Así, el análisis de RNA-seq en animales DCM (**Figura 1**) sirvió como referencia para correlacionar y contextualizar nuestros hallazgos.

Para evaluar el impacto del ejercicio aeróbico sobre el metabolismo glucídico,

analizamos el peso corporal, la glucemia en ayunas y la sensibilidad a la insulina en ratones obesos. Los grupos OB y OBA presentaron mayor peso en comparación con CT, sin efecto del entrenamiento sobre esta variable. La glucemia en ayunas fue significativamente más alta en OB, mientras que el ejercicio redujo este parámetro en OBA. El análisis del ITT mostró una mayor AUC en OB, indicando resistencia a la insulina, parcialmente revertida en OBA. Estos hallazgos confirman que el ejercicio atenuó, pero no normalizó, las alteraciones glucémicas inducidas por la obesidad (**Figura 2**).

Para investigar los mecanismos moleculares asociados a las alteraciones en el metabolismo cardíaco, evaluamos proteínas clave implicadas en el control energético y en la utilización de sustratos (**Figura 3**). La fosforilación de AMPK fue analizada como marcador del estado energético, mientras que ACC y CPT1A se utilizaron como indicadores de la regulación de la oxidación de ácidos grasos (Garcia & Shaw, 2017; Lee et al., 2018; Liang, 2023). Además, el contenido de PDH activa fue cuantificado para estimar el potencial de utilización de glucosa. Estos blancos permiten comprender si el ejercicio aeróbico en animales obesos promueve una reprogramación metabólica capaz de atenuar las alteraciones inducidas por la obesidad.

Para comprender cómo el ejercicio influye en la bioenergética cardíaca en animales obesos, evaluamos de forma integrada tanto la composición estructural como la función mitocondrial (**Figura 4**). Inicialmente, analizamos mediante Western blot subunidades representativas de los cinco complejos de la cadena transportadora de electrones (NDUFB8, SDHB, UQCRC2, MTCO1 y vATP5A). Además de la proteína desacopladora UCP2, implicada en el control de la eficiencia del acoplamiento (Krauss et al., 2002). Posteriormente, realizamos respirometría de alta resolución para cuantificar la tasa de consumo de oxígeno (TCO_2), midiendo la contribución de los complejos I y II, el consumo total de oxígeno derivado de la entrada de electrones, así como componentes no acoplados a la síntesis de ATP, incluyendo la respiración no mitocondrial y la respiración de fuga (leak). Este enfoque permitió integrar datos de abundancia proteica con parámetros funcionales, ofreciendo una visión amplia de cómo el ejercicio remodela la maquinaria oxidativa en el corazón obeso.

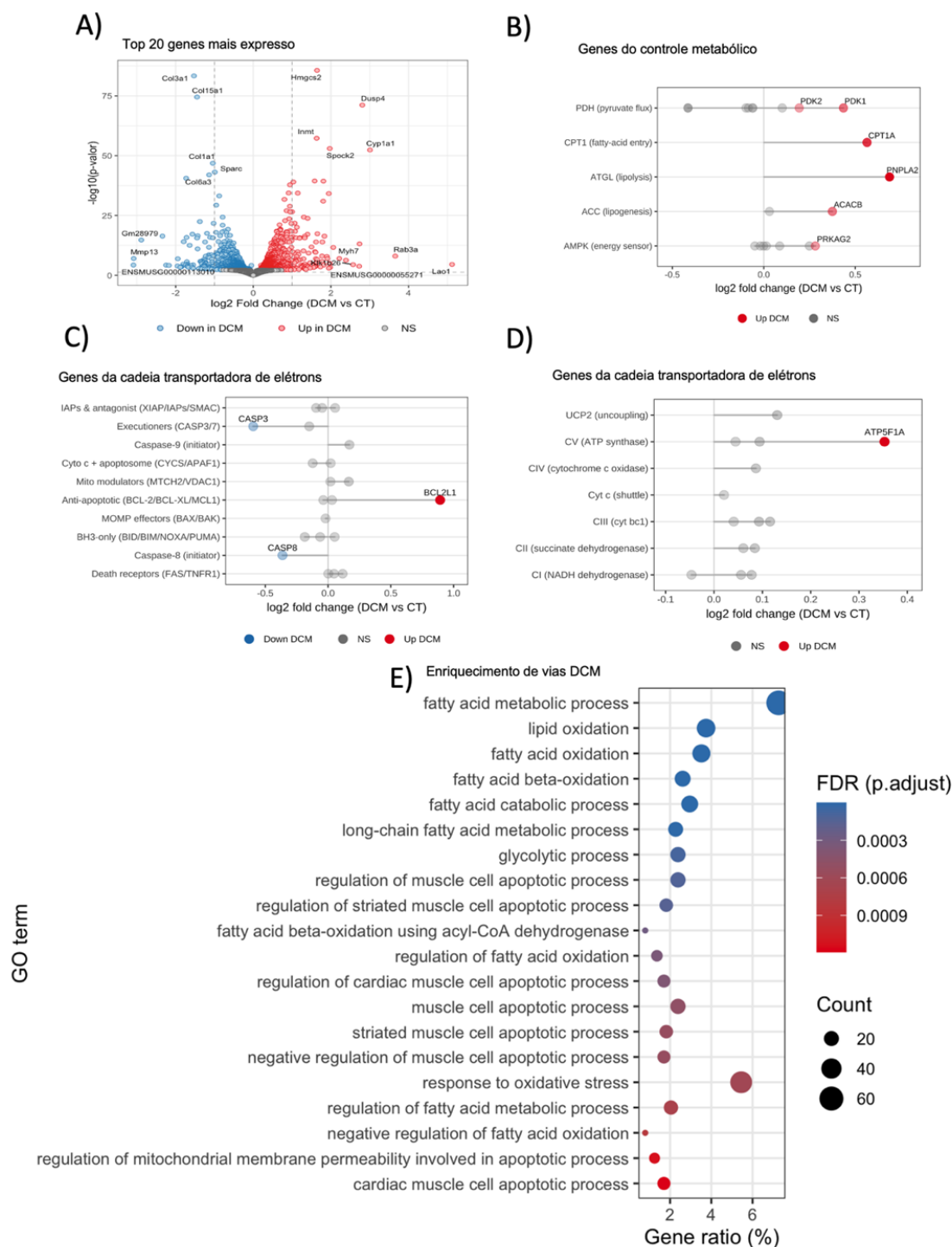


Figura 1. Reprogramación metabólica y apoptótica en la miocardiopatía diabética. RNA-seq en el corazón de ratones con miocardiopatía diabética y diabetes (DCM) comparados con controles (CT). (A) Volcano plot con los 20 genes más regulados. (B) Genes relacionados con el metabolismo energético. (C) Genes apoptóticos. (D) Subunidades de la cadena transportadora de electrones. (E) Enriquecimiento funcional por Gene Ontology (procesos biológicos)

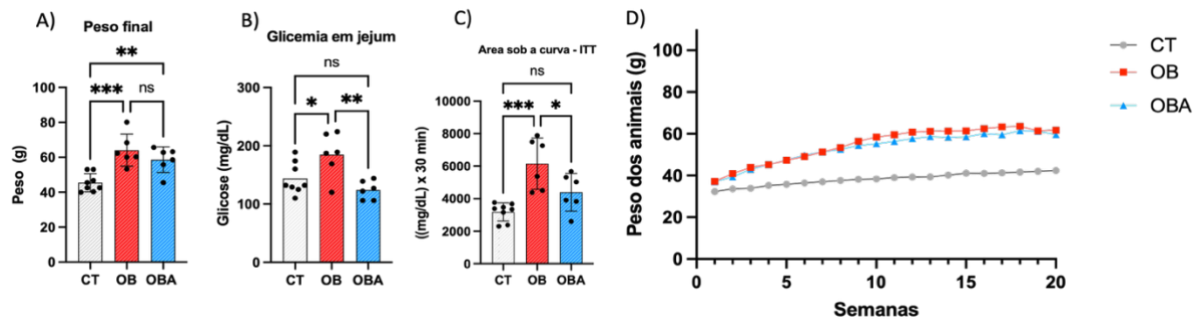


Figura 2. El ejercicio aeróbico atenuó la hiperglucemia inducida por la dieta hiperlipídica. (A) Peso final de los animales tras 20 semanas. (B) La glucemia en ayunas de 5 horas fue elevada en OB, pero reducida en OBA. (C) El área bajo la curva (AUC) en la prueba de tolerancia a la insulina (ITT) indicó resistencia a la insulina en OB, parcialmente revertida en OBA. (D) Evolución ponderal a lo largo de las semanas. Las diferencias fueron evaluadas por ANOVA seguida de Tukey o Kruskal–Wallis según correspondiera. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

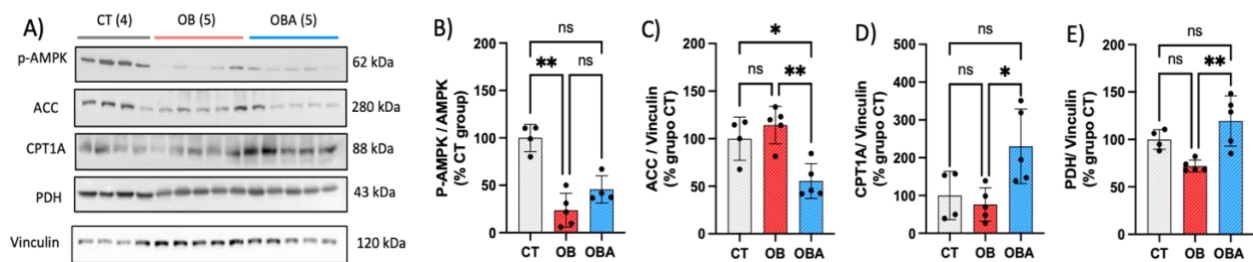


Figura 3. El ejercicio modula proteínas metabólicas cardíacas en ratones obesos. (A) Immunoblots representativos de p-AMPK, ACC, CPT1A y PDH en los grupos control (CT), obeso sedentario (OB) y obeso ejercitado (OBA). (B–E) Cuantificación densitométrica relativa de las proteínas. Datos normalizados por vinculina; estadística según * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

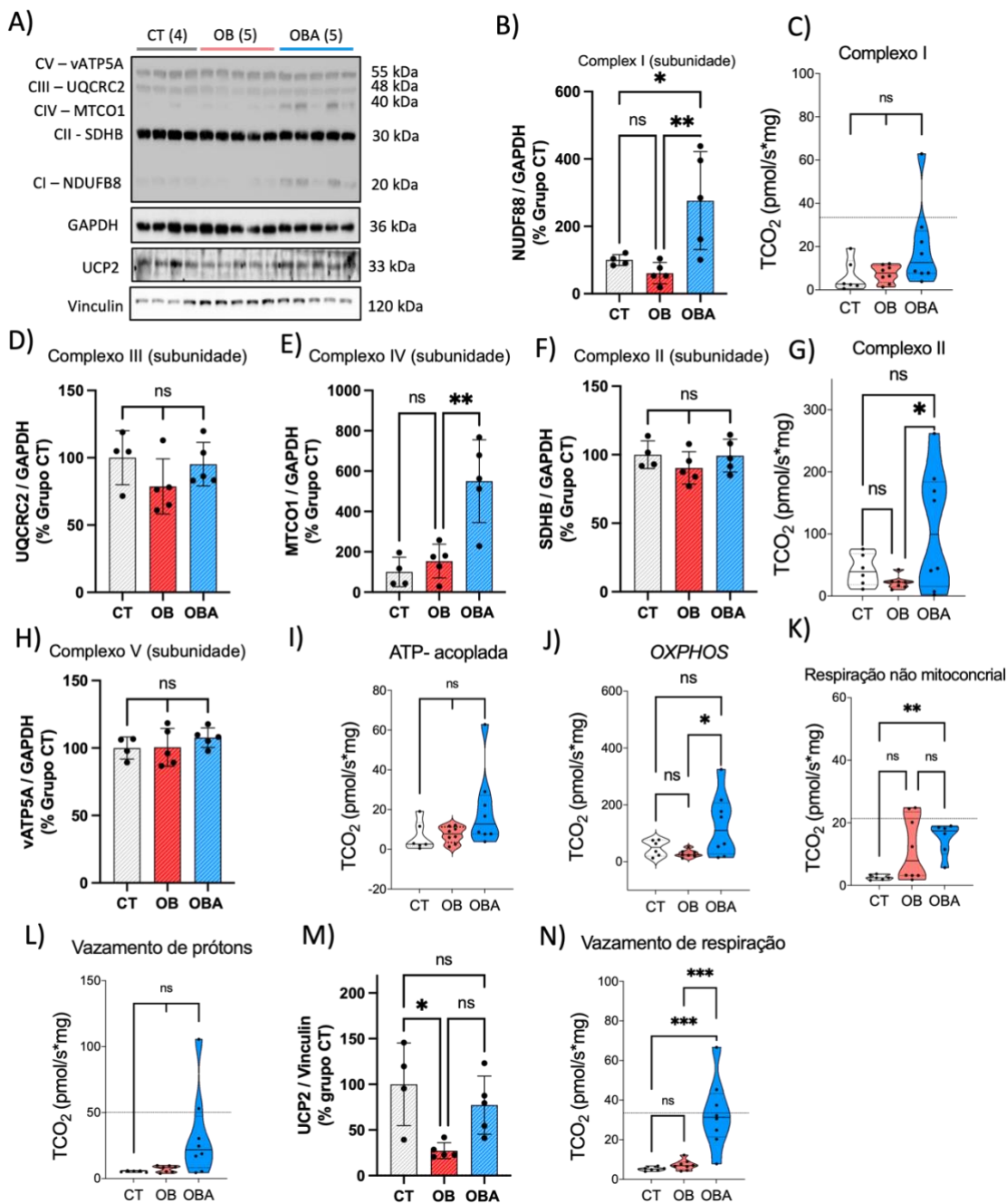


Figura 4. Subunidades de la cadena transportadora de electrones y parámetros respiratorios cardíacos. (A) Immunoblots representativos de subunidades de los complejos I–V y de la proteína desacopladora UCP2, normalizados por GAPDH y vinculina. (B–I) Cuantificación proteica por Western blot y actividad funcional de los complejos, evaluada por la tasa de consumo de oxígeno (TCO₂; Oroboros O2k). (J–L, N). Parámetros no destinados a la fosforilación: respiración no mitocondrial, fuga de protones y respiración de fuga. (M) Contenido cardíaco de UCP2. Las diferencias estadísticas fueron evaluadas por ANOVA/Tukey o Kruskal–Wallis/Dunn según la normalidad. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001.

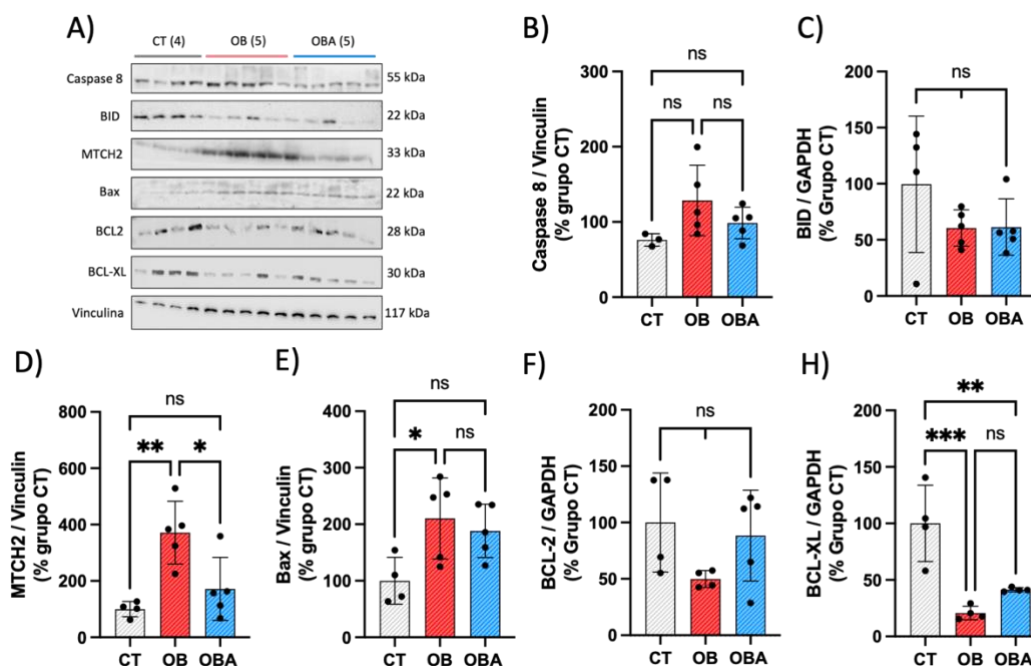


Figura 5. Marcadores apoptóticos cardíacos en ratones. (A) Immunoblots representativos de proteínas de la vía extrínseca (Caspasa-8) e intrínseca (BCL-2, BCL-XL, BAX, BID y MTCH2), normalizadas por GAPDH y vinculina. (B–F) Cuantificación densitométrica relativa. BCL-2 y BCL-XL actúan como antiapoptóticos, mientras que BAX y BID promueven la permeabilización de la membrana mitocondrial; Caspasa-8 participa en la cascada extrínseca. Los datos fueron evaluados por Shapiro–Wilk, seguido de ANOVA/Tukey o Kruskal–Wallis/Dunn. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Ante las alteraciones observadas en la bioenergética mitocondrial, evaluamos si el ejercicio en animales obesos estaría asociado a la activación de vías apoptóticas cardíacas. Para ello, cuantificamos proteínas de la vía intrínseca, incluyendo BCL-2 y BCL-XL (factores antiapoptóticos) y BAX, BID y MTCH2 (proapoptóticos relacionados con la permeabilización mitocondrial) (Qian et al., 2022; M. C. Wei et al., 2001; Zaltsman et al., 2010), así como la Caspasa-8, iniciadora de la vía extrínseca (**Figura 5**).

Discusión

Nuestros datos indican que 15 sesiones de ejercicio aeróbico mejoran el control glucémico en animales obesos independientemente de la pérdida de masa, con una reprogramación metabólica cardíaca ya detectable a corto plazo.

El análisis de proteínas regulatorias del metabolismo energético reveló un patrón compatible con un estado transitorio: la fosforilación de AMPK no fue

totalmente restaurada. La interpretación de este “estado transitorio” es coherente con la cinética temporal de la AMPK post-ejercicio, cuya desfosforilación puede ocurrir entre 3–12 h según la intensidad, mientras que los aumentos sostenidos se observan únicamente con protocolos más prolongados. Esto contextualiza la ausencia de diferencia estadística inmediata en p-AMPK en nuestro punto de muestreo (Ma et al., 2015; Shen et al., 2024; Taylor et al., 2016; Wang et al., 2022). Sin embargo, ACC, CPT1A y PDH fueron modulados en dirección a una mayor flexibilidad de sustratos. En paralelo, observamos un aumento de las subunidades de los complejos I y IV y un mayor flujo de electrones a través del complejo II, acompañado de un incremento en el consumo total de oxígeno. No obstante, la ausencia de aumento de la respiración acoplada al ATP y la elevación de la respiración de fuga y de la respiración no mitocondrial sugieren una fase temprana de expansión oxidativa asociada a una menor eficiencia energética.

Es relevante destacar que algunas modulaciones observadas en el grupo obeso ejercitado, como el aumento de CPT1A, también aparecen en modelos de miocardiopatía diabética a partir del análisis de RNA-Seq (C. Wei et al., 2022), lo que sugiere una superposición parcial de vías adaptativas. Sin embargo, en el ejercicio estas alteraciones ocurren en

paralelo con la mejora de la glucemia en ayunas, la modulación de AMPK y la activación de PDH, lo que indica que, a pesar de la intensificación oxidativa, la flexibilidad metabólica se preserva. De este modo, adaptaciones similares pueden asumir significados distintos dependiendo del contexto fisiológico en el que se inserten.

Finalmente, la evaluación de la vía apoptótica no reveló una activación robusta de proteínas proapoptóticas, lo que sugiere que, a pesar del aumento de la demanda energética y del costo de eficiencia, el ejercicio no exacerba la señalización de muerte celular programada a corto plazo. Entre las limitaciones del estudio se encuentran el diseño con un único punto de muestreo, la ausencia de medidas de lipotóxicos y de análisis estructural mitocondrial. Considerando relatos de que o ejercicio moderado puede exacerbar lipotoxicidade em obesidade (Geng et al., 2025). Futuros estudios con protocolos más prolongados y un análisis integrado de flujos y lípidos bioactivos son necesarios para confirmar si el estado transitorio aquí descrito representa el inicio de una adaptación protectora o un punto de vulnerabilidad.

Conclusión

El ejercicio aeróbico de corta duración mejoró la homeostasis glucémica y

promovió un remodelamiento metabólico precoz en el corazón obeso, caracterizado por un aumento de la capacidad oxidativa sin exacerbación de la señalización apoptótica. Estos hallazgos indican que el ejercicio induce un estado transitorio de adaptación bioenergética, en el cual la flexibilidad metabólica se preserva incluso frente a costos de eficiencia. Futuros estudios, con mayor duración y una evaluación integrada de flujos metabólicos y lipotóxicos, son necesarios para determinar si este estado inicial evoluciona hacia una protección duradera o hacia la disfunción.

Financiamiento

Este trabajo contó con el apoyo de la Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior (CAPES), del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq, Proceso n° 312076/2022) y de la Fundación de Apoyo a la Investigación del Estado de São Paulo (FAPESP, Proceso n° 2024/00966-7).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Estatal de Campinas (Unicamp) por el apoyo institucional, al director por la orientación científica continua y a todos los coautores por la colaboración en el desarrollo de este trabajo. Además de lo ya mencionado, a todas las agencias de investigación brasileñas.

Referencias

- Amar, D., Gay, N. R., Jean-Beltran, P. M., Bae, D., Dasari, S., Dennis, C., Evans, C. R., Gaul, D. A., Ilkayeva, O., Ivanova, A. A., Kachman, M. T., Keshishian, H., Lanza, I. R., Lira, A. C., Muehlbauer, M. J., Nair, V. D., Piehowski, P. D., Rooney, J. L., Smith, K. S., ... Volpi, E. (2024). Temporal dynamics of the multi-omic response to endurance exercise training. *Nature*, 629(8010), 174–183. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06877-w>
- Benhamed, F., Denechaud, P.-D., Lemoine, M., Robichon, C., Moldes, M., Bertrand-Michel, J., Ratziu, V., Serfaty, L., Housset, C., Capeau, J., Girard, J., Guillou, H., & Postic, C. (2012). The lipogenic transcription factor ChREBP dissociates hepatic steatosis from insulin resistance in mice and humans. *Journal of Clinical Investigation*, 122(6), 2176–2194. <https://doi.org/10.1172/JCI41636>
- Carper, D., Coué, M., Laurens, C., Langin, D., & Moro, C. (2020). Reappraisal of the optimal fasting time for insulin tolerance tests in mice. *Molecular Metabolism*, 42, 101058. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101058>
- de Mello, A. H., Costa, A. B., Engel, J. D. G., & Rezin, G. T. (2018). Mitochondrial dysfunction in obesity. *Life Sciences*, 192,

- 26–32.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.11.019>
- Ferreira, J. C., Rolim, N. P., Bartholomeu, J. B., Gobatto, C. A., Kokubun, E., & Brum, P. C. (2007). MAXIMAL LACTATE STEADY STATE IN RUNNING MICE: EFFECT OF EXERCISE TRAINING. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(8), 760–765.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x>
- Garcia, D., & Shaw, R. J. (2017). AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular Cell*, 66(6), 789–800.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.032>
- Geng, J., Zhang, X., Guo, Y., Wen, H., Guo, D., Liang, Q., Pu, S., Wang, Y., Liu, M., Li, Z., Hu, W., Yang, X., Chang, P., Hu, L., & Li, Y. (2025). Moderate-intensity interval exercise exacerbates cardiac lipotoxicity in high-fat, high-calories diet-fed mice. *Nature Communications*, 16(1), 613.
<https://doi.org/10.1038/s41467-025-55917-8>
- Hastings, M. H., Castro, C., Freeman, R., Abdul Kadir, A., Lerchenmüller, C., Li, H., Rhee, J., Roh, J. D., Roh, K., Singh, A. P., Wu, C., Xia, P., Zhou, Q., Xiao, J., & Rosenzweig, A. (2024). Intrinsic and Extrinsic Contributors to the Cardiac Benefits of Exercise. *JACC: Basic to Translational Science*, 9(4), 535–552.
<https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2023.07.011>
- Krauss, S., Zhang, C.-Y., & Lowell, B. B. (2002). A significant portion of mitochondrial proton leak in intact thymocytes depends on expression of UCP2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(1), 118–122.
<https://doi.org/10.1073/pnas.012410699>
- Lee, M., Katerelos, M., Gleich, K., Galic, S., Kemp, B. E., Mount, P. F., & Power, D. A. (2018). Phosphorylation of Acetyl-CoA Carboxylase by AMPK Reduces Renal Fibrosis and Is Essential for the Anti-Fibrotic Effect of Metformin. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(9), 2326–2336.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2018010050>
- Liang, K. (2023). Mitochondrial CPT1A: Insights into structure, function, and basis for drug development. *Frontiers in Pharmacology*, 14.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1160440>
- Ma, X., Fu, Y., Xiao, H., Song, Y., Chen, R., Shen, J., An, X., Shen, Q., Li, Z., & Zhang, Y. (2015). Cardiac Fibrosis Alleviated by Exercise Training Is AMPK-Dependent. *PLOS ONE*, 10(6), e0129971.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129971>

- Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., & Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, 123(11), 1939–1951. <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>
- Shen, Q., Wu, X., Huang, C., Ding, X., & Wan, C. (2024). Aerobic Exercise Activates AMPK/PGC-1 α Pathway, Inhibits Cardiomyocyte Apoptosis Improves Mitochondrial and Infarcted Heart Function. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 518(1), 420–428. <https://doi.org/10.1134/S1607672924600556>
- Tan, Y., Zhang, Z., Zheng, C., Wintergerst, K. A., Keller, B. B., & Cai, L. (2020). Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nature Reviews Cardiology*, 17(9), 585–607. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0339-2>
- Taylor, C. W., Ingham, S. A., Hunt, J. E. A., Martin, N. R. W., Pringle, J. S. M., & Ferguson, R. A. (2016). Exercise duration-matched interval and continuous sprint cycling induce similar increases in AMPK phosphorylation, PGC-1 α and VEGF mRNA expression in trained individuals. *European Journal of Applied Physiology*, 116(8), 1445–1454. <https://doi.org/10.1007/s00421-016-3402-2>
- Thijssen, D. H. J., Uthman, L., Somani, Y., & van Royen, N. (2022). Short-term exercise-induced protection of cardiovascular function and health: why and how fast does the heart benefit from exercise? *The Journal of Physiology*, 600(6), 1339–1355. <https://doi.org/10.1113/JP282000>
- Townsend, L. K., & Steinberg, G. R. (2023). AMPK and the Endocrine Control of Metabolism. *Endocrine Reviews*, 44(5), 910–933. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnad012>
- Walker, J. M. (n.d.). The Bicinchoninic Acid (BCA) Assay for Protein Quantitation. In *Basic Protein and Peptide Protocols* (pp. 5–8). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-268-X:5>
- Wang, P., Li, C. G., Zhou, X., Cui, D., Ouyang, T., Chen, W., & Ding, S. (2022). A single bout of exhaustive treadmill exercise increased AMPK activation associated with enhanced autophagy in mice skeletal

- muscle. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 49(4), 536–543. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13632>
- Wei, C., Sun, M., Liang, X., Che, B., Wang, N., Shi, L., & Fan, Y. (2022). Spermine Regulates Immune and Signal Transduction Dysfunction in Diabetic Cardiomyopathy. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.740493>
- Wei, M. C., Zong, W.-X., Cheng, E. H.-Y., Lindsten, T., Panoutsakopoulou, V., Ross, A. J., Roth, K. A., MacGregor, G. R., Thompson, C. B., & Korsmeyer, S. J. (2001). Proapoptotic BAX and BAK: A Requisite Gateway to Mitochondrial Dysfunction and Death. *Science*, 292(5517), 727–730. <https://doi.org/10.1126/science.1059108>
- Zaltsman, Y., Shachnai, L., Yivgi-Ohana, N., Schwarz, M., Maryanovich, M., Houtkooper, R. H., Vaz, F. M., De Leonardis, F., Fiermonte, G., Palmieri, F., Gillissen, B., Daniel, P. T., Jimenez, E., Walsh, S., Koehler, C. M., Roy, S. S., Walter, L., Hajnóczky, G., & Gross, A. (2010). MTCH2/MIMP is a major facilitator of tBID recruitment to mitochondria. *Nature Cell Biology*, 12(6), 553–562. <https://doi.org/10.1038/ncb2057>

41. Salud Animal

Estudio seroepidemiológico de la leptospirosis en caninos domésticos del sur de Santa Fe y Córdoba, Argentina

Autora: Olarreaga, Gimena; gimenaolarreaga@fcv.unr.edu.ar

Co-autores: Cane, Valentina; Poli, Georgina; Yaafar, Natalia; Cane, Julia; Ascaini, Virginia;
Nascimbene, Augusto

Orientadora: Francois, Silvina; silvinafrancois@fcv.unr.edu.ar

Universidad Nacional de Rosario, Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias
Veterinarias

Resumen

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa zoonótica a nivel global. La identificación de los caninos infectados y la estimación de tasas de seropositividad en una región, son datos importantes para la implementación de medidas preventivas que tengan impacto en “Una Salud”. Los objetivos fueron: identificar los serogrupos de *Leptospira* spp. circulantes en la región, en caninos sintomáticos y asintomáticos, en distintos períodos de tiempo; evaluar la detección de Bratislava, Autumnalis, Australis y Cynopteri, en Argentina y evaluar potenciales factores de riesgo asociados con seropositividad en caninos enfermos. Entre 2022 y 2025, se llevaron a cabo estudios observacionales transversales en el sur de Santa Fe y Córdoba. Mediante el empleo de la MAT, se analizaron muestras de suero

sanguíneo de caninos domésticos (*Canis familiaris*) de ambos sexos, diversas razas y edades. Se analizaron caninos con signos clínicos consistentes con leptospirosis y otros asintomáticos. Mediante una encuesta se recabaron datos acerca de los posibles factores de riesgo. La alta frecuencia de detección de anticuerpos frente a Canicola, Australis, Icterohemorrhagiae, Ballum, Grippothyphosa y Autumnalis, sugiere una circulación endémica en la población del estudio. La mayor proporción de casos de leptospirosis se observó en machos adultos. El acceso al exterior, el contacto con roedores y los hábitos de vagabundeo o caza fueron factores de riesgo importantes en la población analizada.
LEPTOSPIROSIS, CANINOS, SEROLOGÍA

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa zoonótica a nivel global, sensible al clima y un creciente problema de Una Salud, que causa morbilidad y mortalidad en muchas especies de mamíferos, incluyendo humanos, animales de compañía, ganado y fauna silvestre (Vyn, 2023). Presenta una mayor prevalencia en áreas geográficas de climas tropicales, subtropicales y templados; en Argentina reviste carácter endémico (Azocar-Aedo, 2023, Žákovská, 2022, Stanchi, 2019). Es causada por bacterias espiroquetas del género *Leptospira*, dentro del cual se diferencian tres grupos de especies: patógenas, de patogenicidad intermedia y apatógenas (MD-Lasim, 2021). La contaminación del medio ambiente con leptospirosis patógenas ocurre por la diseminación urinaria de los animales infectados (Reagan, 2022). La vía de transmisión más frecuente entre los perros es la indirecta, la cual se produce a través del contacto con un ambiente contaminado con leptospirosis, como ser: agua estancada, suelo y comida. Los principales factores de riesgo a los que se asocia la enfermedad son: el hábito de vagabundeo, las prácticas de caza o de trabajo rural, el hábitat en cercanía a cursos de agua (perros isleños o de zonas suburbanas), así como en caniles con hacinamiento y contacto con roedores o animales silvestres (Azócar-Aedo, 2022).

La urbanización también puede conducir a una mayor exposición a animales infectados y agua contaminada debido a la presencia de poblaciones de fauna urbana y condiciones de vida potencialmente insalubres (Poulakida, 2024). Además, se observó que la leptospirosis canina presenta fluctuaciones estacionales, con un mayor riesgo durante las estaciones húmedas (Vyn, 2023).

Afecta a individuos de todas las edades, razas o sexos. Los perros infectados pueden padecer la enfermedad con una gravedad variable, dependiendo de la cepa actuante, la dosis infectante, la edad, el estatus vacunal y la respuesta inmune orgánica. En general, se debe sospechar la leptospirosis en aquellos que presentan signos de insuficiencia renal o hepática, uveítis, hemorragia pulmonar, enfermedad febril aguda o aborto (Poli, 2016, Sykes, 2023). Algunos no muestran signos clínicos o los manifiestan levemente, mientras que otros, padecen formas graves de la enfermedad con desenlace fatal como resultado de la falla renal (Santos, 2021, Schuller, 2015). Los caninos pueden ser portadores renales por un tiempo prolongado y comportarse como hospedadores de mantenimiento de la bacteria. En este caso, excretan leptospirosis en la orina, la cual representa una fuente de infección potencial para las especies susceptibles, principalmente en zonas de alta densidad de población.

Debido al estrecho contacto con los humanos, juegan un rol importante en la epidemiología de la leptospirosis. La identificación de los caninos infectados y la estimación de tasas de seropositividad reales en una región, son de suma importancia para el desarrollo y la implementación de medidas preventivas que tengan impacto en “Una Salud” (Santos, 2021, Fahimipour, 2021). Con tal finalidad, los caninos pueden ser utilizados como centinelas, para detectar el riesgo de infección potencial que existe para la salud pública (Sant’Anna da Costa, 2022). La infección leptospirósica en caninos se ha notificado en todas las provincias argentinas con tasas de seropositividad que van del 10 al 60%, siendo los serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae los detectados con mayor frecuencia, también se ha demostrado seropositividad a Cynopteri y Castellonis (Poli, 2016, Stanchi, 2007, Tealdo, 2007). En la actualidad, se ha reportado en Europa una amplia diseminación de Grippotyphosa y Bratislava, que merece seguir siendo evaluada a nivel global (Piredda et al., 2021). Debido a que no existen signos específicos de la enfermedad y los hallazgos de laboratorio son poco concluyentes, la confirmación del diagnóstico clínico está basada en pruebas para la identificación directa o indirecta de la bacteria patógena, tales como la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR), el cultivo bacteriológico, el test de aglutinación microscópica (MAT) y otras pruebas serológicas. La MAT, es la técnica serogrupo específica, estandarizada a nivel mundial como prueba de referencia para el diagnóstico serológico de la leptospirosis (Oyamada, 2021). Permite identificar individuos con leptospirosis reciente y también transcurrida, de ahí su utilidad para estudios epidemiológicos.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la exposición a *Leptospira* spp. en poblaciones caninas, tanto con signos clínicos consistentes con leptospirosis, como sin signos clínicos, utilizando la técnica de microaglutinación.

Objetivos Particulares

- 1) Identificar los serogrupos de *Leptospira* spp. circulantes en la región del estudio, en caninos sintomáticos y asintomáticos, en distintos períodos de tiempo.
- 2) Evaluar la detección de los serovares: Bratislava, Autumnalis, Australis y Cynopteri, que no se emplean de rutina como antígenos para la MAT en Argentina.
- 3) Evaluar potenciales factores de riesgo asociados con seropositividad en caninos con sospecha clínica de leptospirosis.

Materiales y Métodos

A. Muestras de suero sanguíneo de grupos caninos y área de estudio:

Entre 2022 y 2025, se llevaron a cabo estudios observacionales transversales en el sur de Santa Fe y Córdoba. Se analizaron muestras de suero sanguíneo de caninos domésticos (*Canis familiaris*) de ambos sexos, diversas razas y edades. Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena safena o braquial por los profesionales veterinarios remitentes, quienes separaron y enviaron el suero. Fueron remitidas al laboratorio de leptospirosis de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, desde establecimientos Veterinarios privados y del Hospital Escuela de Grandes y Pequeños Animales (HEGyPA, FCV-UNR), ubicados en la región del sur de Santa Fe y Córdoba; se conservaron en freezer a -20°C hasta su análisis. El muestreo se realizó siguiendo un modelo no probabilístico por conveniencia, debido al acceso a la población canina de la región del estudio y disponibilidad para la toma de muestras. Los veterinarios proporcionaron los datos recabados durante el examen clínico-epidemiológico, así como los resultados de bioquímica sanguínea, lo que permitió clasificar a los caninos en dos grupos. Un grupo A, de 219 caninos con signos clínicos compatibles con leptospirosis (fiebre, decaimiento, anorexia, pérdida de

peso, vómitos, lesiones gingivales, ictericia, uveítis, desórdenes hemorrágicos, conjuntamente con niveles séricos elevados de urea y creatinina, glóbulos blancos, enzimas hepáticas, etc.), además, en 13 caninos seropositivos, 10 machos y 3 hembras, se analizaron posibles factores de riesgo asociados con la enfermedad. Otro grupo (B), estuvo constituido por 156 perros asintomáticos, provenientes de campañas de esterilización y vacunación realizadas en la ciudad de Casilda, Santa Fe, 75 de una del 2023, y 81 de una del 2025. Los tutores de estos animales, brindaron el consentimiento escrito, revisado y aceptado por el Comité de Ética de la investigación FCV-UNR. Para la detección de posibles factores de riesgo asociados con la infección por *Leptospira* spp. los tutores fueron encuestados para conocer los siguientes datos con respecto a sus mascotas:

- 1) La raza, edad y sexo.
- 2) Lugar de residencia, características epidemiológicas del ambiente en el que viven (presencia de roedores o zonas inundables) y hábitos de los caninos (salidas al exterior de la vivienda, actividad de cacería).
- 3) Historial de vacunación contra *Leptospira* spp.

Prueba de aglutinación microscópica (MAT):

La prueba de aglutinación microscópica se realizó siguiendo el Protocolo de la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE). (OIE terrestre manual, 2021). Se emplearon cepas de referencia de los serogrupos de *Leptospira* spp.: Pomona (serovar Pomona, cepa Pomona); Icterohaemorrhagiae (serovar Copenhageni, cepa M 20), Canicola (serovar Canicola, cepa Hond Utrecht IV), Australis (serovar Bratislava, cepa Jez Bratislava), Pyrogenes (serovar Pyrogenes, cepa Salinem), Sejroe (serovar Hardjo, cepa Hardoprajitno), Autumnalis (serovar Autumnalis, cepa Akiyami A), Bataviae (serovar Bataviae, cepa Swart) de *Leptospira interrogans* (*L. i.*); Grippothyphosa (serovar Grippothyphosa, cepa Moskva V) y Cynopteri (serovar Cynopteri, cepa 3522 C) de *L. kirschneri* (*L. k.*) y Ballum (serovar Castellonis, cepa Castellón 3, de *L. borgpetersenii* (*L. b.*)). La dilución de los sueros utilizada como punto de corte para la selección inicial de sueros reactivos fue de 1:50. Los sueros reactivos al punto de corte inicial se sometieron a una titulación, usando diluciones seriadas al doble, hasta determinar el título más alto de anticuerpos para cada serovar reaccionante. El criterio para clasificar a los sueros como “reactivos” fue la aglutinación de al menos el 50% de las leptospiros libres, observadas en los testigos empleados para cada serovar ensayado.

Análisis estadístico:

Con la información recolectada se realizó un análisis descriptivo de los datos para conocer como está conformada la población en estudio y sus características principales.

Los factores de riesgo potenciales, se categorizaron de acuerdo con el siguiente detalle:

- **Raza:** Pura / Mestizo
- **Edad:** Cachorros (1 a 11 meses), Adulto joven (1 a 3 años), Adulto mayor (4 años en adelante).
- **Sexo:** Macho / Hembra
- **Lugar de residencia:**
 - Acceso al exterior: Si / No
 - Acceso a roedores: Si / No
 - Acceso a zonas inundables: Si / No
- **Hábitos:**
 - Cazador de roedores u otras presas: Si / No
 - Vagabundea: Si / No
- **Historial de vacunación al momento de la evaluación clínica:** Vacunado: Si / No
- **Signología clínica compatible con una infección por *Leptospira* spp.:** Si / No

Resultados y Discusión

En 2022, el grupo A mostró una tasa de seropositividad del 71,42% (40/56). De los cuales un 15% (6/40) reaccionó a un serovar: Bratislava 3, (títulos de 1:50-1:100), Cynopteri 2 (1:100) y Canicola 1

(1:100). El 85% (34/40) restante presentó reacciones múltiples, con los títulos más altos detectados para Canicola (1:51200), Bratislava (1:1600) y Copenhageni (1:800). En 2023, la tasa de seropositividad fue del 35,10% (33/94), las reacciones a un serovar fueron 51,51% (17/33): Bratislava 12 (1:50), Castellonis 5 (1:50) y Canicola 4 (1:100-1:400) y las reacciones múltiples fueron 48,48% (16/33), dentro de las que se hallaron los títulos más elevados de 1:400-1:3200 para Canicola y 1:400 para Copenhageni. En 2024, la tasa fue del 44,11%, con un 40% (6/15) de reacciones individuales: Bratislava 4 (1:50), Canicola y Copenhageni 1 (1:50) y un 60% (9/15) de reacciones múltiples, en las cuales se detectaron los títulos elevados de 1:400-1:3200 para Canicola. En lo transcurrido del 2025, la tasa hallada fue del 55,55% (20/36), con el 65% (13/20) de reacciones a un serovar: Castellonis 6, Canicola 3, Bratislava 2, Copenhageni y Autumnalis 1, con 1:50, y un 35% (7/20) de reacciones múltiples, con 1:200, en un suero para Copenhageni y en otro para Grippotyphosa. La distribución anual de caninos sintomáticos seropositivos y el tipo de reacción a la MAT dentro del grupo A se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Distribución anual de caninos sintomáticos seropositivos y tipos de reacciones a la MAT por año de estudio (2022-2025)

Año	Cantidad analizada	Cantidad de seropositivos	Cantidad de reacciones individuales	Cantidad de reacciones múltiples
2022	56	40	6	34
2023	94	33	17	16
2024	34	15	6	9
2025	36	20	13	7
Total	220	108	42	66

Del grupo B, en 2023, se halló una tasa de seropositividad del 18,66% (14/75), de los cuales se observó el 50% (7/14) de reacciones a un serovar: Autumnalis 3 con un título de 1:50, Bratislava 2 (1:50-1:100), Copenhageni y Castellonis, 1 (1:50). En el restante 50%, se detectaron reacciones múltiples, con el título más alto de 1:100 para Copenhageni y Castellonis. En 2025, se halló una tasa de seropositividad del 43,20% (35/81). Se detectaron 74,28% (26/35) reacciones a un serovar: Bratislava 12 con el título más alto de 1:200, Canicola 4 (1:200), Autumnalis 4 (1:50), Copenhageni 2 (1:50), Grippotyphosa 2 (1:50), Pomona 1 (1:50), Castellonis 1 (1:50) y 9 (25,71%) reacciones múltiples, dentro de las cuales se observaron los títulos más altos de 1:400 para Copenhageni y 1:200 para Canicola. La distribución anual de caninos asintomáticos serorreactivos y el tipo de reacción a la MAT dentro del grupo B se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Distribución anual de caninos asintomáticos serorreactivos y tipos de reacciones a la MAT por año de estudio (2023-2025)

Año	Cantidad analizada	Cantidad de seropositivos	Cantidad de reacciones individuales	Cantidad de reacciones múltiples
2023	75	14	7	7
2025	81	35	26	9
Total	156	49	33	16

En el subgrupo de caninos enfermos en el que se analizaron factores de riesgo, se halló un 61,54% (8/13) seropositivos con títulos de anticuerpos $\geq 1:400$ detectados en la primera o en la segunda muestra de suero (seroconversión) y 38,46% (5/13) con títulos $\leq 1:200$. Exceptuando el caso n°1 (Tabla 3), en el que se halló un título elevado a Canicola, en el resto, la seroreactividad cruzada, no permitió sugerir algún serogrupo como probable causante de la infección. Con respecto a las variables analizadas: los 13 perros con signos clínicos consistentes con leptospirosis fueron seropositivos a la MAT. En relación al sexo, prevalecieron los machos, en los casos confirmados tras la observación de títulos $\geq 1:400$ y seroconversión, estos datos y la edad de los caninos se pueden observar en la Tabla 3; Raza: 61,54 % (8/13) de raza pura y 38,46% (5/13) mestizos; lugar de residencia: 53,8% (7/13) urbanos, 38,5% (5/13) suburbanos y 7,7% (1/13) rural; los 13 tenían acceso al exterior; acceso a roedores: 13 (100%); acceso a sitios con aguas estancadas: 3 (23,1%) tenían acceso; hábitos: 38,5% (5/13) vagabundeaban y 7,7% (1/13) tenía

hábitos de cazador; ninguno contaba con la vacunación contra leptospirosis.

Tabla 3

Seropositividad en la MAT de 13 casos clínicos de leptospirosis en caninos

Nro.	Edad	Sex	P	Co	C	B	G	Ca	A	As	Cy
1*	3 a	M	-	-	6400	-	-	-	-	-	-
1**			-	100	51200	-	-	-	-	-	-
2	3 a	H	-	-	-	100	-	-	-	-	-
3	9 a	M	100	100	100	100	100	-	-	-	-
4	5 m	H	-	100	-	100	-	200	400	-	-
5*	12 a	M	-	-	100	-	-	100	100	100	100
5**			200	100	100	200	-	-	-	200	200
6	9 a	M	-	100	800	1600	200	-	800	400	400
7	5 m	H	-	100	-	-	-	-	-	-	-
8*	6 a	M	-	-	400	-	-	-	-	-	-
8**			-	1600	3200	-	-	-	-	-	-
9	3 a	M	-	200	-	200	-	-	-	-	-
10	2 a	M	100	800	-	-	-	-	-	-	-
11	11 a	M	-	100	-	-	-	-	-	-	-
12	7 a	M	-	400	800	-	-	-	-	100	-
13	8 a	M	-	100	100	-	-	100	-	-	800

P= Pomona, Co= Copenhageni, C= Canicola, B= Bratislava, G= Grippotyphosa,

Ca= Castellonis, A= Autumnalis, As= Australis, Ba= Bataviae, Cy= Cynopteri

*1er. muestra y ** 2da. muestra; a= años y m= meses; M= macho y H= hembra

Dentro del grupo A, se observó variabilidad en las tasas de seropositividad. Los años 2022, 2024 y 2025 presentaron las tasas más altas, lo que sugiere una mayor exposición de los perros a la infección por leptospirosis durante esos años. En 2023, se observó un marcado descenso en la seropositividad. Esta variación podría estar relacionada con los patrones de precipitación a nivel regional, debido a que fue un año de extrema sequía para la región del estudio, que experimentó un régimen de lluvias con un acumulado anual de 580 mm, cantidad muy distante de los promedios históricos elevados para la región. Las fluctuaciones anuales de las tasas de seropositividad indican que la dinámica de la leptospirosis a lo largo de los años parece estar influenciada por factores ambientales como las lluvias caídas en la región, que pueden favorecer

la supervivencia de la bacteria en el medioambiente y el consecuente aumento de la exposición de los canes a la misma (Hacker, 2020). En los años 2022 y 2024, un hallazgo relevante fue la mayor proporción de reacciones serológicas múltiples con títulos de anticuerpos elevados, un perfil serológico que es altamente sugerente de una leptospirosis aguda, de acuerdo con lo reportado en la bibliografía (Sykes, 2011, 2023). Los serogrupos que presentaron los títulos más elevados en las reacciones múltiples, fueron Canicola, Australis e Icterohaemorrhagiae. La alta frecuencia de estos serogrupos y los altos títulos de anticuerpos, sugieren que podrían ser endémicos en la región del estudio y causantes de una gran proporción de las infecciones en los caninos. Los resultados coincidieron con lo reportado en la bibliografía local e internacional, que menciona a Canicola e Icterohaemorrhagiae como los serogrupos históricamente relevantes y ampliamente distribuidos en poblaciones caninas, seguidos por Australis, Ballum y Grippotyphosa (Azócar, 2023, Fahimipour, 2021, Poli, 2016, Reagan, 2022). En 2025, se observó por primera vez dentro del período, el mayor título frente a Grippotyphosa dentro de una reacción múltiple, en un caso que debido a una insuficiencia renal grave y muerte del animal no pudo ser confirmado por

seroconversión. La vacunación contra Canicola, Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa, está disponible en Argentina, a pesar de ello, la persistencia de títulos elevados y casos positivos indica que la presión de infección sigue siendo alta o que la cobertura vacunal no es completa. Para el grupo de caninos asintomáticos (B), los resultados obtenidos en 2025 revelaron una tasa de seropositividad del 43,20%, notablemente superior a la registrada en 2023. Esto quizás se debió a las precipitaciones actuales en la ciudad de Casilda, que pueden haber favorecido las condiciones para la supervivencia y diseminación de *Leptospira* spp., aumentando la probabilidad de exposición de los perros. Por lo tanto, la mayor seroprevalencia observada podría ser un reflejo directo de las diferencias pluviométricas y sus impactos en la ecología de la leptospirosis en la zona. Otro resultado importante es el elevado porcentaje de animales reactivos a un serovar con títulos de anticuerpos $\leq 1:200$. En un contexto epidemiológico de alta endemicidad, la detección de títulos bajos en animales asintomáticos, sugiere una respuesta inmunológica de memoria desarrollada frente a una alta exposición ambiental a *Leptospira* spp. Otro hallazgo relevante fue la detección de reacciones múltiples, indicando la presencia de anticuerpos contra más de un serovar en un individuo. Es particularmente

significativo que, en los casos de infecciones o exposiciones múltiples, los mayores títulos de hasta 1:400 para Copenhageni y 1:200 para Canicola, se detectaron frente a los serogrupos que son los principales causantes de leptospirosis canina a nivel global. Una limitación de nuestro trabajo fue la ausencia de un segundo muestreo serológico para detectar seroconversión, lo que podría haber permitido un diagnóstico certero de leptospirosis subclínica. La detección de reacciones múltiples en la MAT sugiere que el ambiente de Casilda podría favorecer la exposición a una variedad de serovares. En este estudio, se agregaron serovares que no forman parte de la batería de antígenos estándar para el diagnóstico mediante la MAT en Argentina. En todos los períodos analizados, se detectaron anticuerpos contra *L. i. Australis* Bratislava, que en algunos casos mostraron altos títulos, por lo que debería ser considerada su inclusión como antígeno en la MAT para el diagnóstico serológico de caninos. Se halló la mayor proporción de casos de leptospirosis en caninos machos adultos que tenían acceso al exterior o hábitos de vagabundeo, coincidiendo con estudios previos (Azócar-Aedo, 2022). La falta de vacunación específica combinada con el acceso a roedores y a sitios con aguas estancadas, sugiere un alto riesgo de infección por *Leptospira* spp. entre los caninos

analizados. En adición, el hecho de que la mayor proporción de perros provenían de áreas urbanas y suburbanas, donde existe una mayor interacción con otros animales y personas, pudo haber incrementado el riesgo de contagio.

Conclusiones

- ✓ Las tasas de seropositividad para *Leptospira* spp. mostraron una variabilidad anual, lo que sugiere la influencia de factores ambientales y epidemiológicos cambiantes.
- ✓ Los caninos con signología clínica sospechosa presentaron las tasas más altas de seropositividad a *Leptospira* spp.
- ✓ En 2025 se observó un incremento significativo en la tasa de seropositividad de perros asintomáticos en comparación con la de 2023, sugiriendo un aumento del riesgo de infección en la actualidad.
- ✓ Canicola, Icterohaemorrhagiae, Australis, fueron los principales serogrupos asociados a las infecciones clínicas.
- ✓ Los perfiles serológicos con reacciones múltiples y títulos $\geq$ 1:100 para uno o más serovares caracterizaron a los casos clínicos de leptospirosis aguda.
- ✓ La detección de anticuerpos frente a Canicola, Australis,

Icterohemorrhagiae, Ballum, Grippothyphosa y Autumnalis, en las poblaciones analizadas, sugiere una circulación endémica en la población del estudio.

- ✓ Los serogrupos de las especies *L. interrogans* y *L. kirschneri* se encontraron mayoritariamente asociados a la leptospirosis canina.
- ✓ En animales asintomáticos, los perfiles con títulos $\leq 1:100$ frente a serovares específicos sugieren una alta exposición al patógeno en la región del estudio.
- ✓ La interpretación de los resultados de la MAT debe ser cautelosa y siempre en conjunto con el historial de vacunación y la epidemiología local.
- ✓ La mayor proporción de casos de leptospirosis se observó en machos adultos.
- ✓ El acceso al exterior, el contacto con roedores y los hábitos de vagabundeo o caza fueron factores de riesgo importantes en la población analizada.
- ✓ El riesgo de infección parece ser elevado en entornos urbanos, donde la interacción entre perros, reservorios y humanos es estrecha, lo que incrementa la importancia de la leptospirosis como una zoonosis.
- ✓ Los resultados sugieren que el sur de Santa Fe es un área de alta

endemicidad para la leptospirosis, con un riesgo considerable de infección para caninos no vacunados.

- ✓ La leptospirosis es una enfermedad prevenible, y la vacunación representa la herramienta de control más importante que no fue utilizada en ninguno de los casos de este estudio.
- ✓ Se enfatiza la urgencia de implementar y fortalecer medidas de vigilancia epidemiológica, programas de vacunación y estrategias de prevención, que protejan no solo la salud de las poblaciones animales, sino también la salud pública ante el riesgo de esta zoonosis.

Bibliografía

1. Azócar-Aedo, L. (2023). Basic aspects and epidemiological studies on leptospirosis carried out in animals in Chile: A bibliographic review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(2), 97.
<https://doi.org/10.3390/tropicalmed8020097>
2. Azócar-Aedo, L., & Monti, G. (2022). Seroprevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in domestic dogs from southern Chile and risk factors associated with different environments. *Preventive Veterinary Medicine*, 206,

105707.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105707>
3. Fahimipour, A., Khaki, P., & Moradi Bidhendi, S. (2021). Seroepidemiological analysis of leptospiral infection using MAT in stray dogs in Alborz, Iran. *Archives of Razi Institute*, 76(2), 391–396.
<https://doi.org/10.22092/ari.2020.127253.1376>
4. Hacker, K. P., Sacramento, G. A., Lindow, J. C., Cruz, J. S., de Oliveira, D., Nery Jr, N., & Costa, F. (2020). Influence of rainfall on *Leptospira* infection and disease in a tropical urban setting, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 26(1), 169.
<https://doi.org/10.3201/eid2602.190102>
5. Lilenbaum, W., Ristow, P., Almeida Fráguas, S., & Domingos da Silva, E. (2002). Evaluation of a rapid slide agglutination test for the diagnosis of acute canine leptospirosis. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 44(3-4), 124–128.
6. Md-Lasim, A., Mohd-Taib, F. S., Abdul-Halim, M., Mohd-Ngesom, A. M., Nathan, S., & Md-Nor, S. (2021). Leptospirosis and coinfection: Should we be concerned? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 9411.
<https://doi.org/10.3390/ijerph18179411>
7. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2021). Leptospirosis. En *Manual Terrestre de la OIE* (págs. 5-6).
https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf
8. Oyamada, Y., Ozuru, R., Masuzawa, T., Miyahara, S., Nikaido, Y., Obata, F., et al. (2021). A machine learning model of microscopic agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *PLoS ONE*, 16(11), e0259907.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259907>
9. Poli, G., Prado, A., Guerra, N., & Francois, S. (2016). Casos clínicos de leptospirosis en perros. *Drovet News*, 1(6), 21–23.
10. Piredda, I., Bertoldi, L., Benvenuto, G., Palmas, B., Pedditzi, A., Pintore, P., & Chisu, V. (2021). First isolation and molecular typing of pathogenic and intermediate *Leptospira* species from urine of symptomatic dogs. *Veterinary Sciences*, 8(12), 304.
<https://doi.org/10.3390/vetsci8120304>
11. Poulakida, I.; Kotsiou, O.S.; Boutlas, S.; Stergioula, D.; Papadamou, G.; Gourgoulisanis, K.I.; Papagiannis, D. (2024). Leptospirosis Incidence Post-Flooding Following Storm Daniel: The First Case Series in Greece. *Infect. Dis. Rep.*, 16, 880–887.
<https://doi.org/10.3390/>

12. Reagan, K. L., Deng, S., Sheng, J., Sebastian, J., Wang, Z., Huebner, S. N., Wenke, L. A., Michalak, S. R., Strohmmer, T., & Sykes, J. E. (2022). Use of machine-learning algorithms to aid in the early detection of leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 34(4), 612–621. <https://doi.org/10.1177/10406387221096781>
13. Sant'Anna da Costa, R., Di Azevedo, M. I. N., dos Santos Baptista Borges, A. L., Aymée, L., Martins, G., & Lilenbaum, W. (2022). Effect of vaccination against *Leptospira* on shelter asymptomatic dogs following a long-term study. *Animals*, 12(14), 1788. <https://doi.org/10.3390/ani12141788>
14. Santos, C., Dias, G. C., Saldanha, A., et al. (2021). Molecular and serological characterization of pathogenic *Leptospira* spp. isolated from symptomatic dogs in a highly endemic area, Brazil. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 221. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02930-w>
15. Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., et al. (2015). European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56(3), 159–179. <https://doi.org/10.1111/jsap.12328>
16. Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Franco, A., Marcipar, I., Olivares, B., & Venzano, A. (2019). Leptospirosis. En N. Stanchi, P. Martino, E. Gentilini, A. Franco, I. Marcipar, B. Olivares, & A. Venzano, *Microbiología veterinaria* (2da ed., pp. 583-596). Editorial Inter-Médica.
17. Sykes, J.E., Francey, T., Schuller, S., Stoddard, R.A., Cowgill, L.D., Moore, G.E. (2023). Updated ACVIM consensus statement on leptospirosis in dogs. *J Vet Intern Med.*; 37:1966–1982. <https://doi.org/10.1111/jvim.16903>
18. Sykes, J. E., Hartmann, K., Lunn, K. F., Moore, G. E., Stoddard, R. A., Goldstein, R. E. (2011). 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: Diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x>
19. Tealdo, M. S., Sánchez, M. N., & Lachini, R. (2007). Serología positiva a *Leptospira interrogans*: serovar Cynopteri en caninos de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. *InVet*, 9 (1), 59–65. https://www.invet.fvet.uba.ar/revistas/v09n01/v09n01_04.pdf
20. Vyn, C., Grant, L., Libera, K., Jardine, C., Berke, O., & Weese, J. S. (2023). Social and environmental risk factors for canine leptospirosis: A scoping review protocol. *Veterinary Medicine and Science*, 9(1), e907. <https://doi.org/10.1002/vms3.9>

21. Žáková A.; Trembl, F.; Nejezchlebová, H.; Nepeřný, J.; Budíková, M.; Bártová, E. *Leptospira interrogans* Sensus Lato in Wild Small Mammals in Three Moravian Localities of the Czech Republic. *Pathogens* 2022, 11, 888. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080888>

Financiamiento

El proyecto fue financiado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Rosario y el Hospital Escuela de Grandes y Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNR.

Agradecimientos

A todos los colegas que colaboraron en la toma y remisión de muestras al laboratorio de leptospirosis de la FCV-UNR.

39. Salud Humana

ASOCIACIÓN ENTRE LA ESTIMULACIÓN SIMPÁTICA Y LA DISMINUCIÓN DE LA FUERZA PRENSIL EN PACIENTES CON HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Autor: Saavedra, María Alejandra (mary.s_wishes@fm.unt.edu.ar)

Co-autores: Acevedo, Benjamín; Kotowicz, Mijail; Lepen, Luciana; Lobato, Agustina; Viñuales, Guadalupe.

Tutores: Diaz Jaime, Vladimir; Joo Turoni, Claudio Martín; Marañón, Rodrigo ; Peral de Bruno, María de los Ángeles
Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Medicina.

RESUMEN

Introducción: La hipertensión arterial (HTA) afecta a un tercio de los adultos en el país, en su fisiopatología está implicado un desequilibrio entre el tono simpático (SNS) y parasimpático (SNP). Por otro lado, actualmente se está estudiando la interrelación entre disminución de la masa muscular esquelética y riesgo cardiovascular. La fuerza prensil es un marcador simple y confiable del estado funcional del músculo esquelético. Sin embargo, los mecanismos implicados entre la fuerza prensil y el desequilibrio SNS/PNS en la HTA aún se sigue estudiando. **Objetivo:** Evaluar la interrelación entre el balance SNS/SNP y la FP en pacientes con HTA. **Materiales y Métodos:** Estudio observacional incluyó 12 pacientes con HTA sin otros factores de riesgo o daño de órgano blanco, que consultaron, por control cardiovascular, en un consultorio de cardiología durante marzo de 2025. Se midieron los índices PNS y SNS mediante el estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca. La fuerza prensil se midió con un dinamómetro Jamar. **Resultados:** Todos presentaron un PNS negativo ($-2,25 \pm 0,16$) y un SNS aumentado ($4,57 \pm 0,44$). La fuerza prensil se correlacionó positivamente con el PNS y negativamente con el SNS. En los pacientes con fuerza prensil disminuía ($n=5$) hubo mayor inhibición del PNS y mayor exacerbación del SNS que en aquellos en los que estuvo dentro del rango de normalidad ($n=7$). **Conclusión:** Estos hallazgos sugieren que el desequilibrio del sistema nervioso autónomo se asocia a la reducción de la fuerza prensil en pacientes con hipertensión arterial.

Palabras clave: Hipertensión arterial, fuerza prensil, Sistema Nervioso Simpático

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, siendo el factor de riesgo modificable más relevante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y la primera causa de muerte prematura en el mundo (Whelton et al., 2018). Su elevada prevalencia y la morbilidad asociada imponen una carga significativa sobre los sistemas de salud y la calidad de vida de las poblaciones. El manejo integral de la HTA abarca tanto intervenciones farmacológicas como no farmacológicas, dentro de las cuales la actividad física regular y el ejercicio de fortalecimiento muscular han demostrado ser herramientas fundamentales para la prevención y el control de la presión arterial, con reducciones de mortalidad de hasta un 30% (Merizalde Peñafiel, C., & Cristina Stein, A., 2023).

En este contexto, el entrenamiento de fuerza se ha consolidado como una estrategia terapéutica no farmacológica eficaz, capaz de disminuir la presión arterial en adultos normotensos e hipertensos (Sánchez, I. A., 2009). La fuerza muscular, además de su función locomotora, es un indicador pronóstico de salud general. Particularmente, la fuerza “de agarre” ó fuerza prensil de la mano (FP) se ha establecido como un biomarcador simple, económico y confiable de la fuerza muscular global, y

se asocia con la multimorbilidad en la población adulta (Guzmán-Guzmán et al., 2022). Estudios recientes muestran que una baja FP se relaciona con mayor riesgo de mortalidad cardiovascular, resaltando su valor predictivo incluso frente a factores de riesgo tradicionales (Whelton et al., 2018). En un estudio realizado en adultos del Municipio Carmen de Chucurí, se demostró correlaciones significativas con marcadores tempranos de riesgo cardiovascular como el porcentaje grasa, la presión arterial sistólica diastólica y la masa muscular, demostrando ser un potente marcador de riesgo cardiovascular en adultos (Oliveros Rangel et al., 2023).

La relación entre FP y HTA es aún motivo de estudio. Algunos trabajos evidencian una asociación inversa, donde una menor FP se vincula con mayor prevalencia de comorbilidades, incluyendo HTA (Guzmán-Guzmán et al., 2022). Teniendo de antecedentes dos metaanálisis, uno de ellos concluyó que una mayor FP se asocia a una menor prevalencia de HTA en adultos, reforzando la importancia de mejorar la fuerza muscular como medida preventiva (Zhou et al., 2025) mientras que, el otro, indicó que en pacientes con trastornos cardíacos, la FP predijo muerte cardíaca, muerte por cualquier causa e ingreso hospitalario por insuficiencia cardíaca (Pavasini et al., 2019). Asimismo, investigaciones en adultos mayores con

discapacidad demostraron que un incremento en la FP relativa se asocia con reducciones significativas en la presión arterial sistólica y diastólica (Xu et al., 2024) e, inclusive, un estudio con adultos mayores relativamente sanos, reveló una relación significativa entre la rigidez arterial y la pérdida de FP (He et al., 2024). Sin embargo, hay estudios que no demuestran correlaciones significativas, especialmente en adultos mayores, donde la sarcopenia, pero no la FP por sí misma, estará asociada con HTA (Bai et al., 2020). En poblaciones específicas, como adultos con obesidad, incluso se ha reportado una relación positiva entre mayor FP y riesgo de HTA en hombres (Ji et al., 2018).

Estas discrepancias podrían explicarse por factores de confusión como el sexo, el método de medición y la normalización de la FP. Diferencias de género influyen en los resultados: mientras que en hombres una mayor fuerza se relaciona con presiones más bajas, en mujeres puede observarse lo contrario (Bustos Viviescas et al., 2019). Por otro lado, la FP absoluta puede estar influenciada por la masa corporal, mientras que la FP relativa (ajustada por índice de masa corporal o peso) ha mostrado correlaciones más sólidas con los marcadores cardiometabólicos (Guzmán-Guzmán et al., 2022).

Desde el punto de vista fisiopatológico, la hiperactividad simpática es un mecanismo clave en el desarrollo de la HTA (Gamboa, R., 2006). El sistema nervioso autónomo regula de manera involuntaria procesos como la frecuencia cardíaca, la presión arterial y la fuerza muscular, equilibrando la acción del sistema simpático y parasimpático (Coon Elizabeth). Pero la sobreactividad simpática contribuye en el estado hipertensivo a través de la alteración de la relación natriuresis/presión. La aplicación crónica de noradrenalina de forma directa en la arteria renal produce la retención de sodio y agua y el incremento sostenido de la presión arterial (Höcht et al.). Esta disfunción autonómica plantea una paradoja: si bien la estimulación simpática aguda potencia la FP, su activación sostenida en la HTA podría contribuir a una disminución de la FP de forma crónica.

La medición de la FP mediante dinamómetro Jamar es considerado un procedimiento confiable ya que el dinamómetro hidráulico Jamar es el equipo reconocido y preferido para medir la fuerza de agarre, se ha asumido como el equipo gold standard o de referencia para la validación de otros dinamómetros y asociaciones como The American Society of Hand Therapists y The American Society for Surgery of the Hand lo han escogido para elaborar sus

protocolos de medición de fuerza (Díaz Muñoz et al., 2018).

Por otro lado, la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) es un biomarcador válido de la modulación autonómica (Tarvainen et al., 2014). Su uso en investigación permite explorar la interacción entre el sistema nervioso simpático (SNS) y parasimpático (SNP). De esta forma, estudiar simultáneamente FP y VFC en pacientes con HTA sin daño de órgano blanco podría aportar información novedosa sobre los mecanismos fisiopatológicos que vinculan la HTA con la disminución de la fuerza muscular.

En síntesis, la evidencia disponible respalda que tanto la HTA como la baja FP son predictores de riesgo cardiovascular adverso. Sin embargo, la relación entre ambas variables no ha sido explorada de manera concluyente. Este estudio se propone analizar si la hiperactividad simpática crónica se asocia con una disminución sostenida de la FP en pacientes hipertensos de bajo riesgo, aportando nuevas perspectivas sobre la interacción entre disfunción autonómica y rendimiento muscular, y fortaleciendo el potencial de la FP como biomarcador clínico relevante.

OBJETIVOS

Evaluar la interrelación entre el balance SNS/SNP y la FP en pacientes con HTA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional transversal en un consultorio de cardiología de la ciudad de Tucumán (Argentina) durante marzo de 2025.

Se incluyeron 12 pacientes adultos con diagnóstico de HTA esencial, sin antecedentes de otras enfermedades crónicas ni daño de órgano blanco (pacientes con bajo riesgo cardiovascular). Se excluyeron individuos con diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca, enfermedad renal crónica, obesidad, tabaquismo o dislipemia severa, para reducir factores de confusión.

Se utilizaron los siguientes instrumentos:

- **Medición del índice SNS e índice PNS:** Se registró, durante 5 minutos en reposo con un oxímetro de pulso digital (edfin CMS50+ ®) la variabilidad de la frecuencia cardíaca latido a latido. Los datos fueron descargados como archivo .txt y analizados con el software Kubios HRV (Tarvainen et al., 2014)
- **Medición de FP:** se calculó mediante dinamómetro Jamar: el paciente sentado en una silla con respaldo, con el hombro y el antebrazo en posición neutra, mientras que el brazo completo en ángulo de 90°. Se registró el resultado más alto de tres

mediciones consecutivas de la FP de la mano dominante. Se determinó si era normal o no de acuerdo a Tablas normativas ajustadas por edad y sexo (Norman, K. 2010).

Se estudió la asociación entre PNS, SNS y FP.

Análisis estadístico: Los datos se expresaron como promedio $\pm$ error estándar. Se utilizó ANOVA con Post test de Newman Keuls ó Test de Student para datos agrupados, según requerimientos. Se consideró estadísticamente

significativos valores de probabilidad (p) $<0,05$

Consideraciones éticas: El estudio se ajustó a los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los protocolos fueron aprobados por el CEI del Ministerio de Salud de Tucumán (Dictamen 45/2022) Se garantizó el anonimato de los participantes, la confidencialidad de los datos y la participación voluntaria mediante consentimiento informado.

RESULTADOS

FIGURA 1: PNS y SNS en pacientes con fuerza prensil normal o disminuida

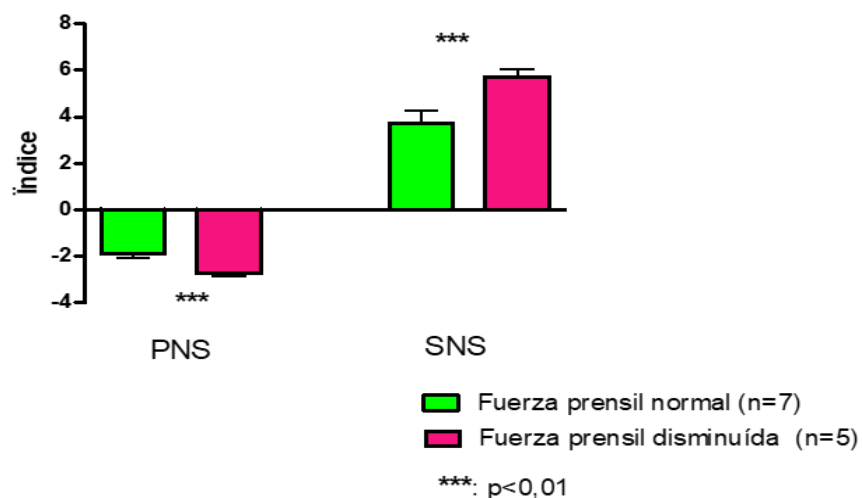
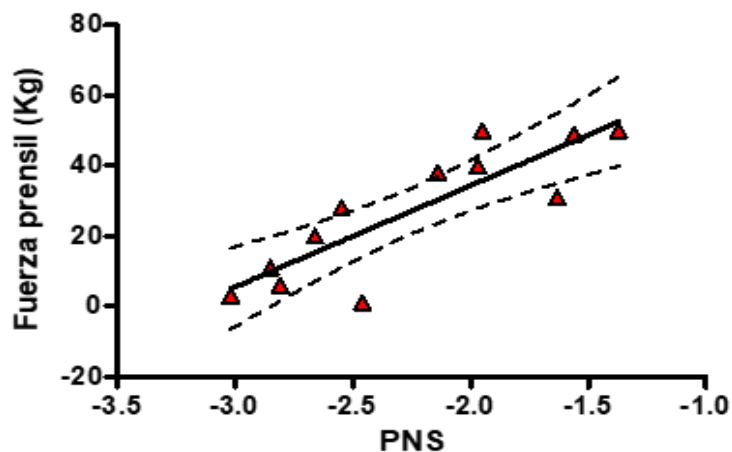
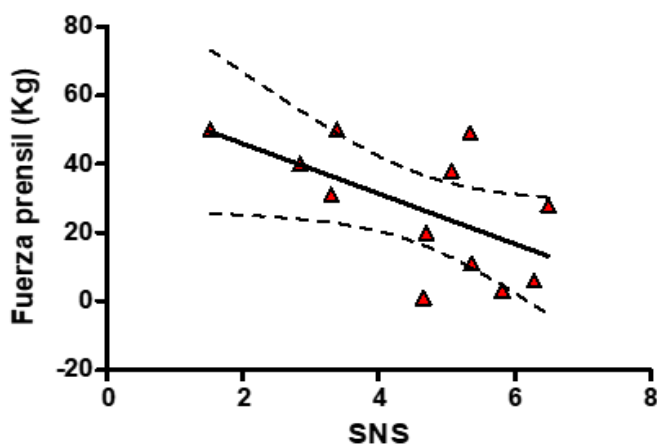


FIGURA 2: Correlación entre FP Y SNP



Pearson R: 0,8547; IC_{95%}: 0.5511 a 0.9585, $p < 0,001$; $n = 12$

FIGURA 3.- CORRELACIÓN ENTRE FUERZA PRENSIL Y SNS



Pearson R: -0,5880; IC_{95%}: -0.8688 a -0.02105, $p < 0,05$; $n = 12$

Se observa en la figura 2 y 3 una asociación positiva entre SNP y FP una asociación negativa entre SNS y FP, indicando que un mayor tono

parasimpático se vincula con mejor función muscular y que una mayor actividad simpática se relaciona con deterioro muscular.

DISCUSIÓN

El principal resultado del presente estudio es que la FP sí disminuye ante un desbalance SNS/PNS. La disminución de la FP ante una hiperactividad del SNS podría involucrar diferentes vías fisiopatológicas. La vasoconstricción crónica limitaría la perfusión muscular, reduciendo oxigenación y disponibilidad de nutrientes. (DeLorey & Clifford, 2022). Además, las catecolaminas elevadas de manera sostenida están relacionadas a estrés oxidativo y daño mitocondrial (Agrawal et al., s. f.), tampoco se puede descartar un estado proinflamatorio asociado: el SNS estimula la liberación de mediadores inflamatorios que podrían afectar al músculo esquelético (Tuttle, Thang & Maier, 2020).

Por su parte, la disminución de la actividad parasimpática limita la capacidad del organismo para recuperar el equilibrio homeostático y podría favorecer procesos de catabolismo muscular.

Estos resultados son consistentes con investigaciones realizadas en otros países, tal como se mencionó previamente:

- He et al. (2024) encontraron asociación entre rigidez arterial y fuerza prensil en adultos mayores sanos.

- Oliveros Rangel et al. (2023) documentaron una relación entre menor fuerza prensil y mayor riesgo cardiovascular en adultos colombianos.
- Pavasini et al. (2019), en un meta-análisis de más de 23.000 pacientes, demostraron que la fuerza prensil predice eventos cardíacos adversos y mortalidad.

El presente trabajo aporta un enfoque novedoso al integrar la medición de la fuerza prensil con parámetros autonómicos en pacientes hipertensos jóvenes, sugiriendo que la disfunción autonómica podría ser un factor subyacente en el deterioro muscular temprano.

CONCLUSIÓN

Se observa que, en los pacientes con HTA desde etapas tempranas (es decir, de bajo riesgo cardiovascular) la disminución de la fuerza muscular se acompaña con aumento del SNS y disminución del PNS. Esto podría indicar que un desbalance SNS/PNS crónico podría estar alterando también la fisiología del músculo estriado. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que el desequilibrio autonómico no solo impacta sobre la presión arterial y la vasculatura, sino también sobre la fisiología muscular.

Las implicancias clínicas de estos resultados son múltiples:

- La incorporación de la dinamometría como herramienta complementaria en el seguimiento de pacientes hipertensos.
- A su vez promover el uso de marcadores simples como la fuerza prensil puede mejorar la estratificación del riesgo en atención primaria, especialmente en contextos de recursos limitados.
- El fomento de actividades que favorecen el tono parasimpático (ejercicio aeróbico, yoga, meditación, técnicas de respiración) podrían contribuir a preservar la fuerza muscular y reducir complicaciones cardiovasculares.

Si bien es necesario confirmar estos hallazgos en estudios con mayor tamaño muestral, diseños longitudinales y poblaciones diversas, este trabajo aporta evidencia inicial de que la fuerza prensil podría convertirse en un biomarcador clave de salud cardiovascular en pacientes hipertensos, abriendo nuevas oportunidades para la prevención, diagnóstico y tratamiento integral de esta patología.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, S., Chakole, S., Shetty, N., Prasad, R., Lohakare, T., & Wanjari, M. (s. f.). Exploring the Role of Oxidative Stress in Skeletal Muscle Atrophy: Mechanisms and Implications. *Cureus*, 15(7), e42178.
<https://doi.org/10.7759/cureus.42178>
- Bai, T., Fang, F., Li, F., Ren, Y., Hu, J., & Cao, J. (2020). Sarcopenia is associated with hypertension in older adults: A systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatrics*, 20(1), 279.
<https://doi.org/10.1186/s12877-020-01672-y>
- Bustos Viviescas, B. J., Rangel Caballero, L. G., Cabrera Arismendy, C. E., Acevedo Mindiola, A. A., & Lozano Zapata, R. E. (2019). La fuerza prensil de la mano y su influencia en la presión arterial de sujetos aparentemente sanos de la ciudad de Cúcuta. *Ustasalud*, 17(1-S), 40.
https://revistas.ustabuca.edu.co/index.php/USTASALUD_ODONTOLOGIA/article/view/2256
- Coon Elizabeth - MSD Manual Profesional: Generalidades sobre el sistema nervioso autónomo.
<https://www.msdmanuals.com/es/professional/>
- DeLorey, D. S., & Clifford, P. S. (2022). Does sympathetic vasoconstriction contribute to

- metabolism: Perfusion matching in exercising skeletal muscle? *Frontiers in Physiology*, 13, 980524.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2022.980524>.
- Díaz Muñoz, G. A., Callejas Martínez, P., Cuesta Malagón, V., & Calvera Millán, S. J. (2018). Concordancia-conformidad entre los dinamómetros de mano Camry y Jamar en adultos. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*, 1(1), 35–41.
<https://doi.org/10.35454/rncm.v1n1.075>
 - Gamboa A, Raúl. (2006). Fisiología de la Hipertensión Arterial esencial. *Acta Médica Peruana*, 23(2), 76-82.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172006000200006&lng=es&tlng=es.
 - Guzmán-Guzmán, I. P., Delgado-Floody, P., Gutiérrez-Pérez, I. A., Caamaño-Navarrete, F., Jerez-Mayorga, D., Zaragoza-García, Ó., & Parra-Rojas, I. (2022). Asociación entre la fuerza prensil relativa de la mano y la obesidad abdominal, la diabetes de tipo 2 y la hipertensión en una población mexicana. *Nutrición Hospitalaria*, 39(1).
<https://doi.org/10.20960/nh.03732>
 - He, Y., Niu, Y., Li, Z., Zhang, R., Chen, Y., Dong, Z., Zheng, Y., Wang, Q., Wang, Y., Zhao, D., Sun, X., Cai, G., Feng, Z., Zhang, W., & Chen, X. (2024). Arterial stiffness is associated with handgrip strength in relatively healthy Chinese older adults. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1342411.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1342411>
 - Höcht, C., Bertera, F., Opezzo, J. A. W., & Taira, C. A. (s. f.). Rol del sistema simpático y parasimpático. En *Libro de Hipertensión (Cap. 43)*. Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial.
<http://www.saha.org.ar/uploads/pdf/Cap.043.pdf>
 - Ji, C., Zheng, L., Zhang, R., Wu, Q., & Zhao, Y. (2018). Handgrip strength is positively related to blood pressure and hypertension risk: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 86.
<https://doi.org/10.1186/s12944-018-0734-4>
 - Merizalde Peñafiel, C., & Cristina Stein, A. (2023). Efecto del ejercicio de fuerza y resistencia en hipertensión arterial: Revisión de la

- evidencia disponible. Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS, 5(5), 218–227. <https://doi.org/10.59169/pentaciencias.v5i5.630>
- Norman, K. (2010). Hand grip strength: Outcome predictor and marker of nutritional status. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 13(3), 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2010.09.010>
 - Oliveros Rangel, O., García Yerena, C. E., Bustos-Viviescas, B. J., Villamizar Navarro, A., & Lizcano Sánchez, A. del P. (2023). Relación entre fuerza prensil y riesgo cardiovascular en adultos del municipio del Carmen de Chucurí. Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, 29(4). <https://revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/2195/pdf>
 - Pavasini, R., Corra, U., Zamboni, P., & et al. (2019). Grip strength predicts cardiac adverse events in patients with cardiovascular disease: An individual patient pooled meta-analysis. Heart, 105(11), 834–841. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2018-313816>
 - Sánchez, I. A. (2009). Entrenamiento de la fuerza muscular como coadyuvante en la reducción del riesgo cardiovascular: Revisión sistemática. **Revista Colombiana de Cardiología**, 16(6), 239–248. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/327446528_Entrenamiento_de_la_Fuerza_Muscular_como_coadyuvante_en_la_Reduccin_del_Riesgo_Cardiovascular
 - Tarvainen, M. P., Niskanen, J.-P., Lipponen, J. A., Ranta-Aho, P. O., & Karjalainen, P. A. (2014). Kubios HRV—Heart rate variability analysis software. Computers in Biology and Medicine, 113, 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2013.07.024>
 - Tuttle, C. S. L., Thang, L. A. N., & Maier, A. B. (2020). Markers of inflammation and their association with muscle strength and mass: A systematic review and meta-analysis. Ageing Research Reviews, 64, 101185. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101185>
 - Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Jr., Collins, K. J., Dennison Himmelfarb, C., DePalma, S. M.,

Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., MacLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbigele, B., Smith, S. C., Jr., Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., Sr., Williamson, J. D., & Wright, J. T., Jr. (2018). 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: Executive summary: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension*, 71(6), 1269–1324. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000066>

- Xu, L., Cai, X., Zhang, Y., Wen, X., & Sun, T. (2024). The offsetting relationship between hand grip strength and hypertension: A cross-sectional study from physically disabled over 50 years old in China. *PLoS ONE*, 19(6), e0300314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300314>
- Zhou, Z., Liu, M., Ye, S., & et al. (2025). A cross-sectional study of the association between handgrip strength and hypertension among adults in China. *Chinese Journal of*

Disease Control & Prevention, 29(2), 158–163. <https://zhjbkz.ahmu.edu.cn/en/article/doi/10.16462/j.cnki.zhjbkz.2025.02.006>

39.-Salud Humana

Rol *in vitro* e *in vivo* de PTHrP en la quimiorresistencia al oxaliplatino en las células de cáncer colorrectal

Autor: Birkenstok, Cintia; e. mail: cintia.birkenstok@uns.edu.ar

Co-autor(es): Carriere, Pedro; e.mail: pmatias.carriere@gmail.com;

Novoa Díaz, Belén; e.mail: mb.novoadiaz@gmail.com

Zwenger, Ariel; e. mail: azwenger@yahoo.com.ar

Directora: Gentili, Claudia; e. mail: cgentili@criba.edu.ar

Universidad Nacional del Sur (UNS)

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (UNS), INBIOSUR (CONICET/UNS)

Resumen

El microambiente tumoral (MT) favorece la quimiorresistencia del cáncer colorrectal (CCR). Previamente, determinamos que el péptido relacionado a PTH (PTHrP), presente en el MT, induce eventos asociados al comportamiento agresivo del CCR. El objetivo de este trabajo es estudiar en modelos celulares y animales si PTHrP establece una comunicación entre células de CCR y de su MT para favorecer la quimiorresistencia al oxaliplatino, droga empleada en el CCR. Mediante ensayos de viabilidad observamos que PTHrP de manera directa o indirectamente a través de las células endoteliales del MT favorecería la quimiorresistencia de las células HCT-116 (de CCR humano) al oxaliplatino. Seguidamente, evaluamos en xenotransplantes de células HCT-116 generados en ratones inmunodeprimidos “nude” el efecto de PTHrP en la resistencia al oxaliplatino. Contrariamente a lo hallado *in vitro*, no detectamos quimiorresistencia por PTHrP, al menos en el tiempo que duró el ensayo. Por otro lado, observamos *in vitro* que PTHrP disminuye la sensibilidad de las células tumorales intestinales murinas CT-26 al oxaliplatino. En base a esto, luego empleamos ratones Balb/c con tumores de las células CT-26 y hallamos en este modelo singénico que PTHrP no sólo atenúa el efecto del oxaliplatino sino que también incrementa los niveles del factor pro-tumoral β -catenina aún bajo la acción del citostático, según análisis inmunohistoquímico. En conjunto, estos resultados sugieren que PTHrP favorecería la resistencia al oxaliplatino tanto *in vitro* como *in vivo*.

Palabras claves: PTHrP, quimiorresistencia, microambiente

Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los tumores más frecuentes del sistema digestivo, representa el tercer tipo de neoplasia maligna más prevalente y la segunda causa de muerte por cáncer a nivel mundial (Sung et al., 2021).

En las últimas décadas, las estrategias de detección y los tratamientos han mejorado disminuyendo la proporción de recaídas/recidivas hasta en un 65-88% (Briede et al. 2021). Actualmente, el tratamiento del CCR consiste principalmente en resección quirúrgica, inmunoterapia, radioterapia y quimioterapia. Los agentes quimioterapéuticos como el 5-fluorouracilo (5-FU), el oxaliplatino, y el irinotecán (CPT-11) han mejorado la supervivencia general de los pacientes con CCR avanzado en las últimas décadas (Ma et al., 2023). Sin embargo, una proporción de pacientes presentan recurrencia y metástasis debido al desarrollo de nuevos subtipos de CCR y por la resistencia adquirida a las terapias empleadas (Yang et al., 2022). El oxaliplatino es una droga antitumoral de tercera generación basada en platino (Pt) y es comúnmente utilizada en el tratamiento de primera línea en los pacientes con CCR avanzado y en la terapia adyuvante luego de la resección completa del tumor primario. El oxaliplatino ingresa en las células y se une al ADN produciendo aductos de ADN-Pt que inhiben la

replicación del ADN y la transcripción del ARN. Esto a su vez genera daño en el ADN y, por último, apoptosis para lograr sus efectos terapéuticos. A pesar de la eficacia inicial de la quimioterapia, aproximadamente el 50% de los pacientes con CCR de grado II y III desarrollan resistencia en la terapia adyuvante basada en oxaliplatino (Zeng et al., 2023).

Durante la última década, ha tomado relevancia el microambiente tumoral (MT) en la progresión del CCR. El MT incluye todo el ambiente celular alrededor de las células tumorales, como las células endoteliales, células inmunes, fibroblastos, células mesenquimáticas y además la matriz extracelular (Zhou et al, 2022). El comportamiento de las células tumorales está influenciado por interacciones moleculares específicas entre las células de cáncer y el MT. En este sentido, la comunicación bidireccional entre las células tumorales y su microambiente ocurre a través de la liberación de factores autócrinos y parácrinos, influyendo en eventos relacionados con la progresión tumoral tales como la proliferación, la apoptosis, la migración, la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), la transición epitelio-mesenquimática (TEM), la invasión, el fenotipo de células madre de cáncer o “cancer stem cells” (CSC) y la quimiorresistencia (Arneth et al. 2019; Cardoso et al., 2021).

Una citoquina asociada al desarrollo

tumoral es el péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP). Aunque inicialmente se la identificó como el agente causal de hipercalcemia en pacientes con enfermedad oncológica avanzada, PTHrP modula desde el inicio de nuestras vidas importantes funciones fisiológicas. PTHrP actúa de manera parácrina y autócrina en prácticamente todos los tejidos (Naafs et al., 2017) siendo su acción parácrina la más frecuente (McCauley y Martin, 2012); es sintetizada como un precursor del que derivan varios fragmentos y aquellos que contienen la región N-terminal 1-34 presentan homología con la hormona paratiroidea (PTH) y comparten su receptor, RPTH1 (Naafs et al., 2017). En cáncer de mama, próstata, pulmón y colon es frecuente la sobre-expresión de PTHrP en ausencia de hipercalcemia (Naafs 2017; Zhang et al., 2019). Además, otros hallazgos (Malakouti et al., 1996; Nishihara et al., 1999; Nishihara et al., 2007) sugieren que la expresión de PTHrP se correlacionaría con factores pronósticos desfavorables del CCR. En estudios *in vitro* empleando las líneas celulares humanas Caco-2 y HCT116 derivadas de CCR, el grupo BIOL MOL CANCER (CONICET/UNS) del cual la primera autora de este trabajo es integrante, demostró que PTHrP promueve los fenómenos de supervivencia, proliferación y migración celular. También esta citoquina favorece la angiogénesis asociada al tumor, el

aumento de la expresión de marcadores implicados en la invasión y progresión del CCR (como Met y SPARC), modula la expresión de marcadores de CSC de CCR, favorece cambios morfológicos y de expresión de varios marcadores asociados a la TEM e incrementa la quimiorresistencia a CPT-11 y oxaliplatino y al citostático doxorrubucina a través de Met. PTHrP también actúa directamente sobre las células endoteliales humanas HMEC-1 del microambiente (que expresan RPTH1) favoreciendo la proliferación, la expresión de las citoquinas pro-tumorales TGF- β y SPARC con su consecuente secreción al medio condicionado (MC). El tratamiento de las células del CCR con los MCs de las células endoteliales (tratadas con PTHrP) disminuye la expresión de E-cadherina, favorece cambios morfológicos relacionados a TEM y al fenotipo CSC, modula la expresión de Met e induce quimiorresistencia a CPT-11. Estos hallazgos, resumidos en la **Fig. 1**, resaltan el rol de PTHrP en el diálogo entre las células de CCR y las células del MT. *In vivo* la citoquina favorece cambios morfológicos compatibles con el programa TEM y la neoangiogénesis y modula la expresión de los siguientes marcadores asociados a eventos del desarrollo tumoral: Ki67, ciclina D1, ERK1/2 MAPK, CREB/ATF-1, RSK, VEGF, E-cadherina, SPARC, CD44, CD24 y Met. Incluso es capaz de modular la expresión de su propio receptor RPTH1

(Fig. 2). Con el fin de extrapolar los hallazgos *in vitro* e *in vivo*, se realizó un estudio retrospectivo utilizando biopsias diagnósticas de pacientes con CCR en quimioterapia provenientes del Hospital Interzonal Dr. José Penna (Bahía Blanca) y del Hospital Provincial de Neuquén. Se observó que RPTH1 disminuye y Met aumenta su marcación al disminuir la diferenciación histológica del tumor. Estudios recientes revelan el mismo patrón de comportamiento entre RPTH1 y claudin-1 (marcador relacionado con la progresión del CCR). Al ser PTHrP una citoquina de acción autócrina/parácrina, se asume que los cambios en su expresión y la de su receptor se correlacionan. Estos resultados sugieren que la citoquina tiene acción principalmente al principio del desarrollo tumoral que condicionaría la expresión/activación aberrante al menos de Met en estadios más avanzados favoreciendo la quimiorresistencia. Los resultados del grupo de investigación fueron plasmados en 10 publicaciones (Lezcano et al., 2013; Calvo et al., 2014; Martín et al., 2014; Calvo et al., 2017; Martín et al., 2018; Calvo et al., 2019; Novoa Díaz et al., 2020; Carriere et al., 2021; Novoa Díaz et al., 2021; Novoa Díaz et al., 2022).

La señalización desencadenada por factores que median la comunicación entre las células del MT y las células del CCR son de gran importancia. La vía de

señalización de Wnt/ β -catenina tiene un rol importante en el desarrollo y el mantenimiento normal del embrión y puede regular la proliferación celular y la apoptosis en múltiples tumores. La vía de Wnt hiperactiva produce el descenso en la degradación de β -catenina y un incremento de la translocación al núcleo, donde inicia la expresión de genes target de Wnt como ciclina D1, c-Myc y CD44, que participan en la progresión tumoral (Hasbal-Celikok et al., 2021). En el CCR la vía de señalización de Wnt/ β -catenina está asociada a la proliferación, invasión, metástasis y se ha reportado que también participa en la quimiorresistencia (Xu et al., 2020). En este sentido, nuestro grupo de investigación observó que PTHrP activa el mecanismo tumorigénico de β -catenina independientemente de la señal de Wnt en las células Caco-2 y HCT-116 (Martín et al., 2018). Por lo tanto, el abordaje de esta vía de señalización podría ser una estrategia importante para el tratamiento del CCR.

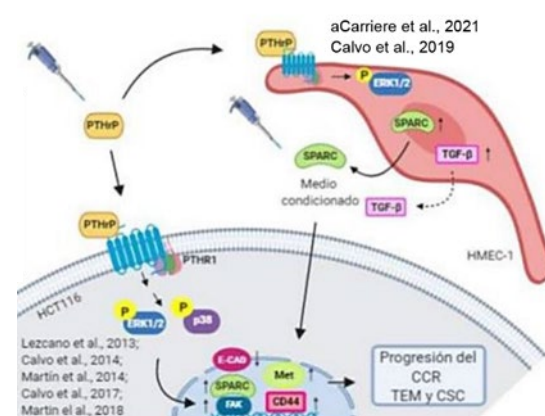


Figura 1.

Objetivos: A partir de los antecedentes en el tema y los datos obtenidos previamente por nuestro grupo y teniendo en cuenta que el MT es un factor clave que favorece varios eventos asociados a la conducta agresiva del CCR, se propuso en este trabajo estudiar en modelos *in vitro* e *in vivo* si PTHrP establece una comunicación entre células tumorales de CCR y las células de su microambiente para favorecer la quimiorresistencia específicamente al oxaliplatino, droga frecuentemente utilizada en el CCR y los mecanismos moleculares asociados a esta resistencia. Para cumplir con este objetivo se planteó emplear modelos celulares y dos modelos animales: el primero generando xenotransplantes de las células humanas HCT116 en ratones “nude”; este modelo ampliamente empleado en nuestro grupo permitió obtener los antecedentes del efecto de PTHrP *in vivo* (Calvo et al., 2017; Martín et al., 2018; Calvo et al., 2019; Carriere et al., 2021; Novoa Díaz et al., 2022). El segundo es un modelo singénico de CCR que permite en los ratones Balb-c evaluar los efectos de PTHrP sobre células murinas con capacidad metastásica y el impacto en el microambiente tumoral.

Materiales y métodos:

Líneas celulares y condiciones de cultivo

Para llevar a cabo los estudios *in vitro* empleamos células humanas HCT-116

derivadas de CCR y células tumorales murinas CT-26 derivadas de ratones BALB/c. Mientras que como modelo celular del microambiente tumoral utilizamos células endoteliales inmortalizadas HMEC-1. Las líneas celulares humanas se cultivaron en DMEM mientras que las células CT-26 se cultivaron en RPMI 1640. Todas las líneas se cultivaron con 10% de suero fetal bovino (SFB), penicilina y estreptomycin a 37°C en atmósfera de 5% de CO₂ en aire.

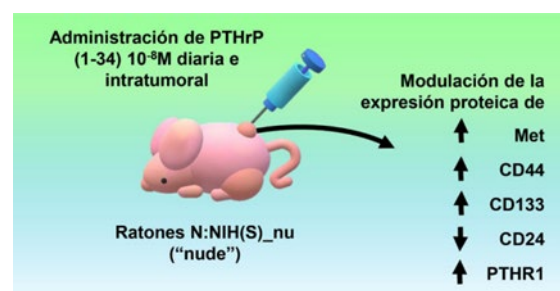


Figura 2.

Para iniciar los experimentos las tres líneas celulares con un 70-80% de confluencia fueron privadas de SFB por dos horas para sincronizar las células en fase quiescente G0/G1 y obtener resultados reproducibles. Luego, dependiendo del objetivo del experimento, las células fueron incubadas en presencia o ausencia de PTHrP (1-34) en vehículo con DMEM 1% de SFB a una concentración de 10⁻⁸ M o, con medios condicionados como se describen a continuación. La concentración de PTHrP (1-34) fue seleccionada teniendo en cuenta todos los antecedentes del grupo BIOL MOL CANCER. El oxaliplatino fue

donado por el Dr. Ariel Zwenger, integrante del nuestro grupo de investigación.

Estudios en ratones inmunodeprimidos “nude”

Los ratones N:NIH(S)_{nu} se obtuvieron del bioterio de la Facultad de Cs. Veterinarias de la Universidad de La Plata y se alojaron en el Bioterio C del DBBYF-UNS, donde se llevó a cabo el experimento. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE) del DBBYF-UNS (Protocolo 237/2024, Registro N° CDBBYF 0352/24). Tal como se observa en la **Fig. 3**, se dispusieron de 23 ratones, de 20 a 25 g de peso, a los cuales se les inyectó las células HCT-116 (1 millón en 100 µl de PBS) de manera subcutánea en el flanco derecho de los ratones según protocolo descrito por Dunn y colaboradores (Dunn et al., 2011). Dos semanas después, los ratones se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos: Control (100 µl vehículo de PTHrP), PTHrP (40 µg/kg en 100 µL PBS), Oxaliplatino (5 mg/kg) y PTHrP + Oxaliplatino (40 µg/kg en 100 µL PBS + 5 mg/kg de Oxaliplatino). Los ratones recibieron durante 15 días las dosis de PTHrP o su vehículo intratumoralmente. El tratamiento diario tiene como objeto mantener el nivel del compuesto en sangre. Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 100 mm³, se inició la administración del citostático o su vehículo

mediante inoculación intraperitoneal (el día 21 y 28 desde la inoculación de las células tumorales). La dosis y la cantidad de aplicaciones del quimioterapéutico se respetaron de acuerdo a los protocolos previos (Erdem et al., 2017; Nagaraju et al., 2014). Se midió el tamaño de los tumores tres veces a la semana y se empleó el peso de los ratones como un indicador de bienestar animal. Se realizó la eutanasia de los animales con el agente químico CO₂. El método de eutanasia fue elegido de acuerdo a la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio, Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. Finalmente se calculó la tasa de crecimiento tumoral al finalizar el ensayo, teniendo en cuenta los valores del volumen del tumor de los grupos tratados con respecto al control. Todos los tumores fueron procesados hasta su inclusión en tacos de parafina.

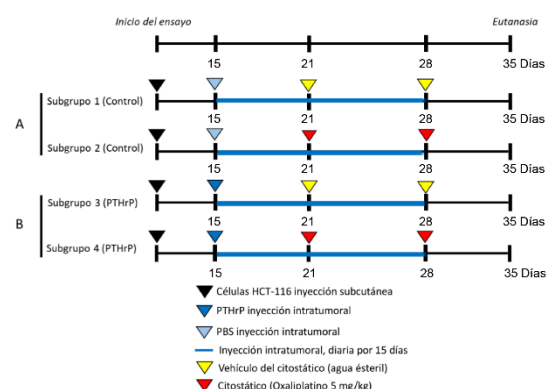


Figura 3.

Estudios en ratones Balb/c

Se emplearon 25 ratones inmunocompetentes Balb/c de 6 a 8

semanas de edad y un peso de 19 a 27 gramos, del Bioterio C del DBByF-UNS. Los animales se alojaron en jaulas con libre acceso a alimento y agua, y fueron tratados de acuerdo con los principios éticos de la experimentación animal. El protocolo fue avalado por el CICUAE-DBByF-UNS (Protocolo 236/2024, Registro N° CDBByF 0352/24).

Tal como se muestra en la **Fig. 4**, se inyectaron 200.000 células CT-26 en el flanco derecho de cada ratón (Ripoll et al., 2010) y, el tumor se detectó por palpación a partir del día 21 post inoculación de las células. A continuación, los ratones se distribuyeron aleatoriamente en grupos de acuerdo al tratamiento a seguir. La administración diaria con PBS (control) o PTHrP (tratado) intratumoral comenzó el día 34 cuando los tumores alcanzaron un volumen adecuado. Al cuarto día del inicio de la inyección con el péptido, se administró de manera intraperitoneal, 5 mg/kg de oxaliplatino por ratón o el vehículo de la droga (PBS) según corresponde y se repitió la misma dosis la semana siguiente. La dosis y la cantidad de aplicaciones del quimioterapéutico se eligieron de acuerdo a literatura (de Carvalho et al., 2023). El tamaño del tumor se determinó 3 veces a la semana y el volumen se calculó como $a \times b^2/2$, donde a es el diámetro mayor y b es el diámetro menor. También se evaluó el peso de los ratones como parámetro de bienestar

animal y se calculó la tasa de crecimiento tumoral (TGR, por sus siglas en inglés) (Lamarca et al., 2019).

La eutanasia de los ratones se realizó mediante dislocación cervical, cuando el volumen tumoral era el adecuado o ante evidencia de pérdida de peso corporal (>10%), ulceración tumoral u otras indicaciones de salud deteriorada siguiendo las directrices de FELASA. Luego, se realizó la necropsia de los ratones para la obtención de los tumores que se preservaron en formol hasta su inclusión en tacos de parafina para su posterior evaluación por técnicas histológicas. Además, para investigar la presencia de metástasis, se removió el pulmón derecho, el hígado y el bazo que también fueron procesados para su inclusión en parafina.

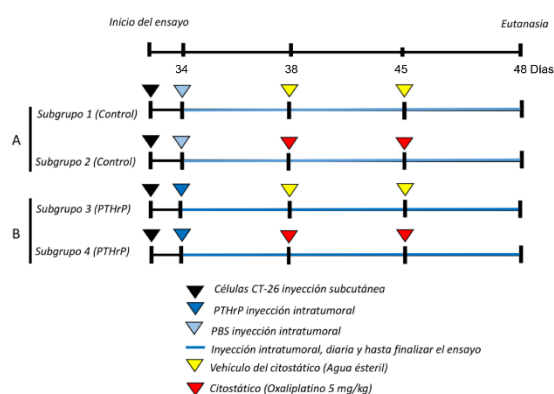


Figura 4.

Métodos experimentales

MCs de las células HMEC-1

Se obtuvieron MCs a partir de cultivos de las células HMEC-1, tratadas durante 1,5 y 16 horas en presencia o ausencia de PTHrP 10^{-8} M, según protocolo

previamente empleado (Calvo et al., 2019). Los medios condicionados de las células HMEC-1 control (MCC) y tratado con PTHrP (MCT) se recolectaron y centrifugaron durante 10 minutos a 10.000 rpm para eliminar los restos celulares, y los sobrenadantes se almacenaron a -80°C hasta el momento de su utilización para el tratamiento de las células HCT-116. Cada experimento se llevó a cabo con MC obtenido de forma independiente.

Técnica de exclusión del colorante Azul de Tripiano

Este ensayo se utiliza para determinar el número de células viables y/o muertas en una suspensión celular. Luego del tratamiento, las células se tripsinizaron y se tiñeron con una solución 0,4 % del colorante azul de Tripiano. Se visualizaron las células empleando un microscopio y una cámara de Neubauer y se contaron aquellas viables que excluyeron el colorante. Cada ensayo se realizó tres veces y por triplicado. Los resultados se expresaron como porcentaje respecto al control.

Técnicas histológicas:

Tinción con hematoxilina y eosina (H&E)

Para la visualización de la organización estructural de los tejidos, se cortaron secciones de las piezas tumorales y de los órganos extraídos que luego, fueron desparafinados en xileno, seguidamente se hidrataron los cortes con soluciones de alcohol etílico de concentraciones

decrecientes para proceder con la coloración con H&E seguido de la deshidratación para el montaje que permitió la visualización de los tejidos teñidos usando un microscopio óptico.

Inmunohistoquímica (IHQ)

Se cortaron secciones de tejido incluidos en parafina y se prepararon para la evaluación de marcadores por IHQ respetando el mismo protocolo que para trabajos previos (Novoa Diaz et al., 2022). Se empleó como anticuerpo primario anti- β -catenina. La tinción IHQ se realizó manualmente utilizando el kit de detección IHQ ABCAM (Abcam, Cambridge, MA, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Mediante el uso de microscopio óptico se obtuvieron imágenes representativas que se emplearon para cuantificar la densidad óptica usando un complemento del programa ImageJ-NIH.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba t de Student para comparar los valores medios entre dos condiciones experimentales. Los datos se expresaron como media $\pm$ desviación estándar (DE) y se consideró estadísticamente significativo un valor p menor de 0,05, con las siguientes notaciones: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Resultados

El MC derivado de las células HMEC-1 tratadas con PTHrP atenúa el efecto citotóxico del oxaliplatino en las células HCT-116

Dado que PTHrP participa en la quimiorresistencia en otros modelos tumorales (Cui et al., 2016; Gagiannis et al., 2009), pero también induce resistencia a drogas quimioterapéuticas en las células de CCR (Martín et al., 2018; Novoa Díaz et al., 2022), nos propusimos inicialmente evaluar cuanto está afectada la sensibilidad de las células del CCR al oxaliplatino frente a la acción de PTHrP. Para ello, las células HCT-116 se trataron con oxaliplatino (10 μ M) en combinación o no con PTHrP. El tiempo de incubación y la concentración de oxaliplatino fueron seleccionados de acuerdo a trabajos previos y bibliografía (Novoa Díaz et al., 2022; Alimohammadi et al., 2023). Mediante la técnica de exclusión del colorante azul de tripano, se observó que efectivamente PTHrP atenúa el efecto citotóxico del quimioterapéutico luego de 24 horas de tratamiento (**Fig. 5**).

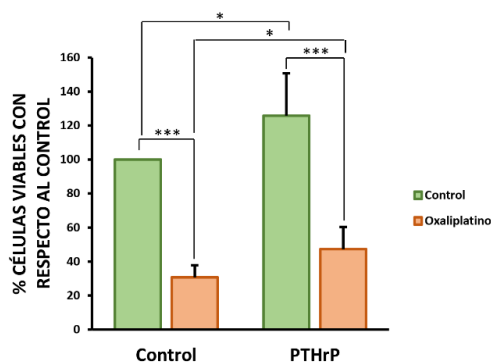


Figura 5.

Teniendo en cuenta que las células endoteliales vasculares del MT liberan factores implicados en la progresión tumoral (Alsina-Sanchis et al. 2021; Maishi et al. 2019) y, considerando nuestros antecedentes que demuestran el efecto de PTHrP sobre las células endoteliales HMEC-1 (Carriere et al., 2021; Calvo et al., 2019) se propuso seguidamente evaluar si los factores liberados por las células del microambiente tumoral expuestas a PTHrP favorecen la quimiorresistencia al oxaliplatino. Para ello, las células HCT-116 se expusieron al MC proveniente de las células endoteliales, previamente tratadas o no con PTHrP a diferentes tiempos (1, 5 y 16 horas). Luego, del tratamiento con los MCs, las células HCT-116 se expusieron a una concentración de 10 μ M de oxaliplatino al 1% de SFB hasta completar las 24 horas de tratamiento. Los tiempos de tratamiento fueron seleccionados de acuerdo con resultados previos (Carriere et al., 2021; Calvo et al., 2019; Martín et al., 2018). Mediante el ensayo de viabilidad empleando el colorante azul de Tripano, se reveló que las células HCT-116 son menos sensibles al oxaliplatino cuando son expuestas al MC de las células endoteliales tratadas con PTHrP durante 16 horas (**Fig. 6**). Estos hallazgos sugieren que esta citoquina actuando indirectamente favorecería el comportamiento agresivo de células de CCR atenuando el efecto

citotóxico del fármaco oxaliplatino en las células tumorales HCT-116.

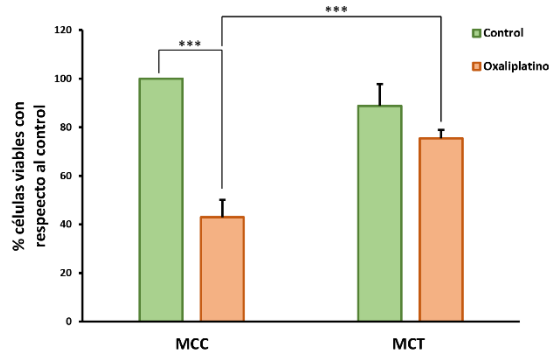


Figura 6.

Estudio del efecto de PTHrP y el quimioterapéutico oxaliplatino en un modelo *in vivo*.

Como se comentó, nuestro grupo de investigación obtuvo varias evidencias del rol de PTHrP *in vivo* mediante el modelo de xenoinjertos de células HCT-116 en ratones inmunodeprimidos “nude” (Martín et al., 2018; Calvo et al., 2019; Carriere et al., 2021; Novoa Diaz et al., 2021, Novoa Diaz et al., 2022). Por lo tanto, se propuso emplear este mismo modelo animal para validar los resultados de resistencia al oxaliplatino obtenidos *in vitro*. Durante el transcurso del ensayo se midieron los volúmenes de los tumores y al comparar el tamaño tumoral entre los distintos grupos no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los mismos (Fig. 7A). Similares resultados obtuvimos al determinar la tasa de crecimiento tumoral al final del ensayo, comparando el grupo control con el grupo que recibió PTHrP y el citostático (Fig. 7B).

Sin embargo, en este modelo animal se observó que PTHrP en presencia de oxaliplatino promueve el crecimiento tumoral en comparación con el grupo control (flecha negra). Teniendo en cuenta que el tratamiento de los tumores con PTHrP duró 14 días, es necesario llevar a cabo nuevos ensayos para determinar si el tratamiento prolongado con PTHrP es capaz de revertir o atenuar el efecto del oxaliplatino.

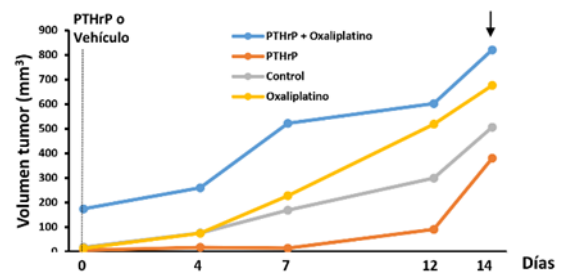


Figura 7 A.

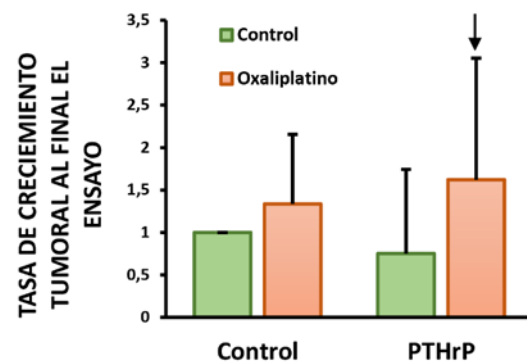


Figura 7 B.

In vitro, PTHrP disminuye la sensibilidad al oxaliplatino de las células murinas CT-26 altamente agresivas

Si bien las células HCT-116 son tumorigénicas, y nuestro grupo de investigación cuenta con una vasta información respecto a los efectos de

PTHrP sobre esta línea de CCR, para profundizar en el estudio de la modulación de la citoquina en eventos asociados a invasión y metástasis es que surgió la necesidad de recurrir a un nuevo modelo de estudio más agresivo y con capacidad metastásica. Contando con el antecedente de resultados *in vivo* obtenidos por el grupo de investigación del Dr. Daniel Alonso del Laboratorio de Oncología Molecular de la Universidad de Quilmes (Ripoll et al., 2010; Garona et al., 2016), se propuso utilizar las células tumorales intestinales murinas con capacidad metastásica CT-26. Para evaluar si estas células son responsivas a PTHrP, se llevó a cabo ensayos de viabilidad, y se observó que las células CT-26 en presencia de PTHrP por 24 horas son menos sensibles al oxaliplatino (20 y 50 μ M) con respecto a la condición control sin el tratamiento con el péptido ($p < 0,01$) (**Fig. 8**). Estos datos sugieren que en las células CT-26, PTHrP favorecería eventos asociados al comportamiento agresivo tal como la quimiorresistencia al oxaliplatino.

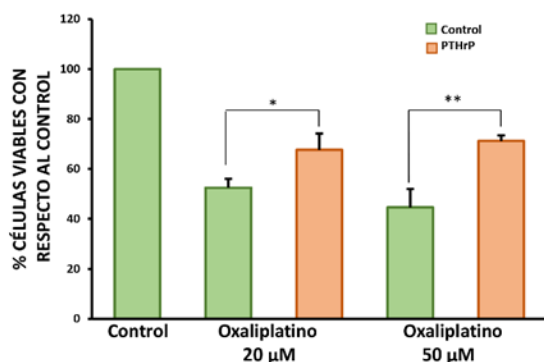


Figura 8.

PTHrP participaría en la resistencia a oxaliplatino en un modelo murino con capacidad metastásica de CCR

Teniendo en cuenta que el modelo de los ratones “*nude*” atímicos es un modelo limitado y a partir de los resultados obtenidos *in vitro* con las células CT-26, se decidió utilizar un modelo singénico de carcinoma colorrectal inoculando estas células murinas en ratones BALB/c para evaluar la respuesta del oxaliplatino del grupo control respecto a aquel expuesto a PTHrP. Este modelo además de ser un modelo con capacidad metastásica es altamente inmunogénico (Sato et al., 2021).

Durante el tiempo que duró el ensayo y para evaluar su bienestar, los ratones se pesaron tres veces a la semana y no observamos diferencias estadísticamente significativas en el peso de los ratones durante el tratamiento. Sin embargo, en aquellos grupos que recibieron oxaliplatino vía intraperitoneal, posiblemente por el efecto toxico del citostático, se observó un descenso del peso luego de la segunda dosis recibida, lo que llevo a la interrupción del experimento (día 14 del inicio de la administración de PTHrP o su vehículo) (**Fig. 9A**). Además, se midieron los tumores y se determinó la TGR (%) a partir de los volúmenes tumorales obtenidos. Observando que luego de la segunda dosis de oxaliplatino la TGR fue mayor para el grupo expuesto a PTHrP respecto del

grupo control (**Fig. 9B**), estos resultados sugieren que PTHrP disminuye la sensibilidad de las células tumorales intestinales con capacidad metastásica al citostático y promueve el crecimiento del tumor.

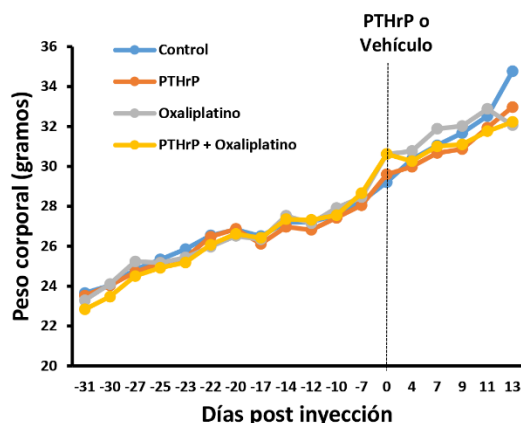


Figura 9 A.

Durante el ensayo, precisamente al inicio del tratamiento, dos ratones mostraron signos de ascitis abdominal y considerando que los animales son seres sintientes se procedió al sacrificio humanitario. Durante la necropsia de los ratones observamos pequeñas masas tumorales en la cavidad abdominal además del tumor primario.

Teniendo en cuenta que las células CT-26 tienen capacidad metastásica en hígado, pulmón y bazo, se decidió evaluar dichos órganos (Chai et al., 2019; Ripoll et al., 2010). Al observar el hígado y pulmón no se encontró evidencia macroscópica de nódulos en la superficie de los mismos. Sin embargo, una observación más exhaustiva del bazo nos permitió determinar que los ratones que desarrollaban tumores en el flanco derecho presentaban un tamaño de

bazo mayor, en comparación con los ratones que no desarrollaron tumor. Más investigaciones son necesarias para determinar si el tratamiento con PTHrP y oxaliplatino influyen en las diferencias previamente mencionadas.

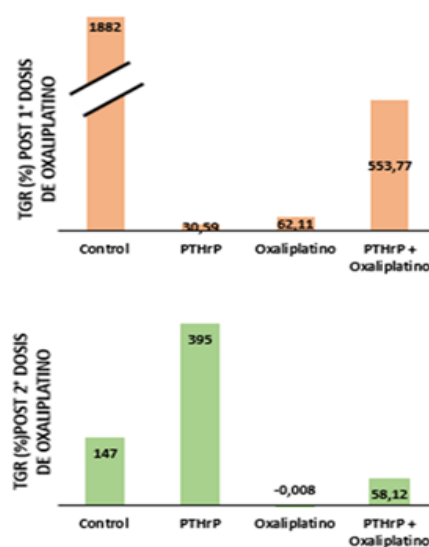


Figura 9 B.

Seguidamente, se procedió a observar los cortes teñidos con H&E de los tejidos tumorales del modelo singénico (**Fig. 9 C**). Diferentes áreas de los tumores fueron evaluadas, observando células en fase de crecimiento, células apoptóticas y regiones con necrosis. Principalmente en el centro de los tumores observamos zonas con mayor muerte celular a causa de la ausencia de nutrientes necesarios para la supervivencia celular. Mientras que en la periferia de los tumores pertenecientes al grupo control y con PTHrP observamos que la gran mayoría de las células estaban en distintas fases de mitosis (flecha negra), lo que indica una alta actividad de las

células tumorales. Sin embargo, no encontramos diferencia estadísticamente significativa entre estos grupos. Por otro lado, la mayor cantidad de figuras mitóticas de los grupos expuestos a oxaliplatino, y sometidos a PTHrP respecto al control sugieren que la citoquina favorece que las células continúen dividiéndose y que el tumor incremente su tamaño aún en presencia del citostático ($p < 0,01$).

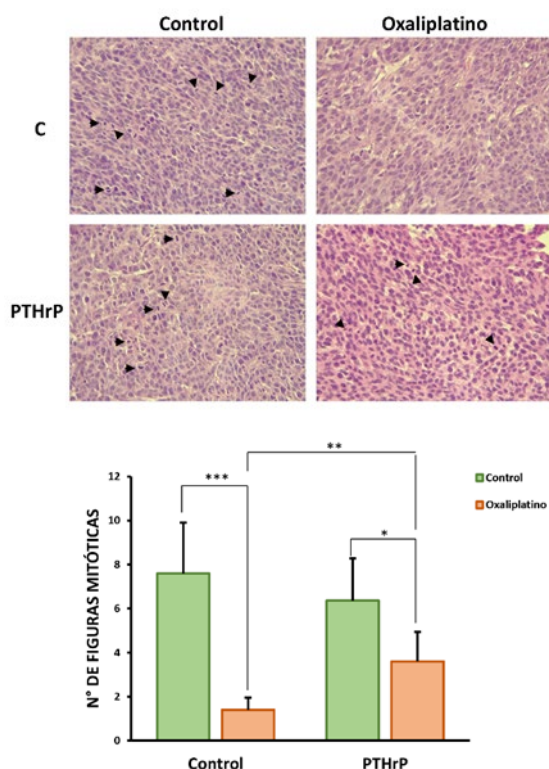


Figura 9 C.

PTHrP modula los niveles proteicos de β -catenina *in vivo*, en presencia del agente quimioterapéutico oxaliplatino

Como se mencionó previamente, nuestro grupo de investigación demostró que PTHrP modula la expresión de marcadores moleculares implicados en la progresión celular en xenotrasplantes de células de

CCR en el modelo murino “*nude*” (Calvo et al., 2017; Martín et al., 2018; Calvo et al., 2019; Carriere et al., 2021; Novoa Diaz et al., 2022). Además, se demostró que la exposición de las células derivadas de CCR humano a PTHrP aumenta la expresión de β -catenina y regula positivamente los oncogenes ciclina D1 y c-Myc, con la consiguiente inducción de la proliferación celular (Martín et al., 2018). Teniendo en cuenta estos hallazgos y de otros investigadores de que β -catenina es un factor pro-tumoral en el CCR (Xu et al., 2020; Huang et al., 2024), se procedió a evaluar por IHQ, los niveles de este marcador molecular en los tejidos tumorales generados en los ratones “*nude*”. En este sentido, observamos, que los niveles proteicos de β -catenina aumentan en presencia de PTHrP (**Fig. 10 A**).

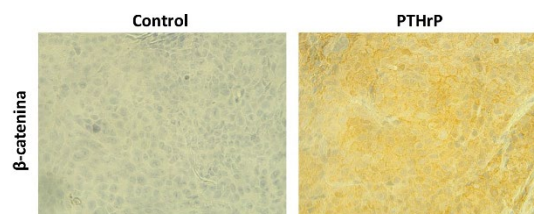


Figura 10 A.

A continuación, en los tejidos tumorales generados en los ratones Balb/c se realizó el análisis inmunohistoquímico de β -catenina y a partir de la cuantificación de la inmunoreactividad observamos que en los tumores de los ratones tratados con oxaliplatino y que recibieron PTHrP, los niveles de β -catenina aumentan en

comparación con los tumores de ratones control ($p < 0,001$) (**Fig. 10B y C**). Estos hallazgos sugieren que PTHrP en el modelo singénico podría favorecer la quimiorresistencia al oxaliplatino a través de la vía de señalización de β -catenina.

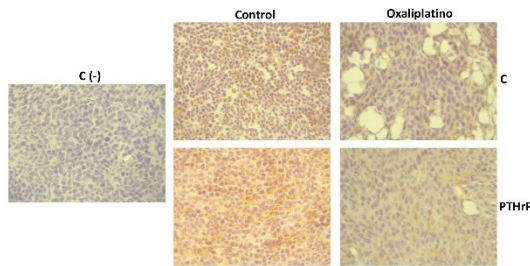


Figura 10 B.

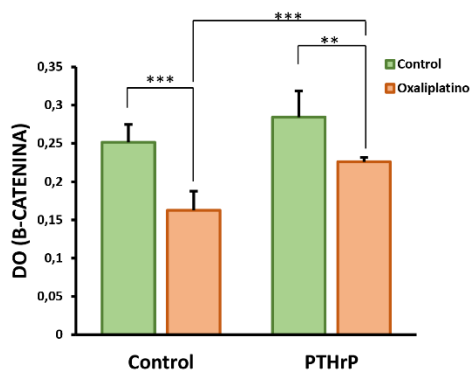


Figura 10 C.

Discusión

La quimioterapia basada en oxaliplatino es el régimen terapéutico utilizado para los pacientes con CCR avanzado (Lou et al., 2023). Sin embargo, un desafío importante en el tratamiento del CCR es el desarrollo de resistencia a los fármacos. Los mecanismos subyacentes a la resistencia son complejos y multifacéticos, e incluyen alteraciones en la captación y eflujo de fármacos, cambios en la sensibilidad de las dianas farmacológicas, mecanismos de reparación del daño al ADN e interacciones

con el MT (Ryu et al., 2024). En este sentido, el MT está compuesto por células tumorales, células intersticiales, matriz extracelular y citoquinas secretadas por las células que lo componen. El MT tiene un rol muy importante en la proliferación del tumor, la invasión y metástasis (Wang et al., 2023).

Dentro de la vasculatura, las células endoteliales producen PTHrP. Rian y colaboradores demostraron por primera vez que las células endoteliales humanas producen PTHrP, pero no el receptor PTH/PTHrP (Rian et al., 1994). A partir de este antecedente, las investigaciones de nuestro grupo se focalizaron en explorar la participación de PTHrP en la modulación del fenotipo agresivo de las células de CCR a través de su influencia sobre las células de la vasculatura del MT. Se determinó que las biomoléculas presentes en el MC derivado de células endoteliales promueven en las células tumorales intestinales características asociadas a la plasticidad celular, desdiferenciación y resistencia al fármaco CPT-11 (Calvo et al., 2019; Carriere et al., 2021; Novoa Díaz et al., 2022; Novoa Diaz et al., en preparación). Por lo tanto, el siguiente paso fue investigar si PTHrP favorecía la liberación de factores en el MC de las células endoteliales que contribuirían a la resistencia de las células tumorales HCT-116 al quimioterapéutico oxaliplatino. Observamos que PTHrP actuando sobre

las células endoteliales, atenúa el efecto citostático del oxaliplatino sobre las células HCT-116. Estos resultados sugieren la presencia de citoquinas y/o factores en este MC que promueven cambios asociados al fenómeno de quimiorresistencia. Por lo tanto, comprender la relación entre las células cancerosas y los componentes del MT es fundamental para diseñar estrategias para el tratamiento del CCR.

En los últimos años, obtuvimos evidencia que PTHrP en xenoinjertos de células HCT-116 en ratones “*nude*” incrementa la expresión de marcadores relacionados con eventos tumorigénicos (Martín et al., 2018; Calvo et al., 2017; Calvo et al., 2019; Carriere et al., 2021; Novoa Díaz et al., 2022). Por lo tanto, nos propusimos evaluar en el mismo modelo animal los resultados de resistencia al oxaliplatino obtenidos *in vitro*. Sin embargo, durante el tiempo que duró el ensayo, no logramos observar en este modelo de xenoinjerto el efecto de PTHrP en la resistencia al citostático en los tumores de las células HCT-116. Esto pudo deberse a las limitaciones propias del modelo de ratones “*nude*” empleado que, aunque carecen de células T maduras en el timo y de una respuesta de células B dependientes de las T, su respuesta inmune innata está intacta y limita el trasplante de células cancerosas humanas (Panaampon et al., 2021). Ante estos hallazgos, surgió la necesidad de encontrar

un modelo singénico, apropiado para evaluar las interacciones entre el tumor y el estroma. A través de un ensayo empleando xenoinjertos de células CT-26 generados en ratones Balb/c determinamos por primera vez que PTHrP en presencia de oxaliplatino incrementa la tasa de crecimiento tumoral, es decir atenúa el efecto citotóxico de la droga en comparación al grupo control.

A pesar que no pudimos observar nódulos metastásicos en los órganos evaluados a partir de la necropsia de los ratones, observamos un incremento del tamaño del bazo en aquellos ratones donde el tumor creció. Alimohammadi y colegas demostraron que la monoterapia con oxaliplatino provoca un incremento en la población de linfocitos T reguladores en el bazo de los ratones (Alimohammadi et al., 2023; Sato et al., 2021). Además, PTHrP puede encontrarse en el bazo y actuar como una citoquina. Funk y colegas demostraron que la administración de la endotoxina LPS incrementa los niveles de ARNm de PTHrP en el bazo, es decir que el aumento de PTHrP durante una respuesta inmune exacerbada podría desempeñar un papel importante en la modulación inmunitaria, quizás al mediar cambios en la proliferación y/o función de los linfocitos (Funk et al., 1993). Más investigaciones son necesarias para determinar si PTHrP interviene en la

respuesta inmune y contribuye a la quimiorresistencia en el CCR.

Previos estudios sugieren que la activación aberrante de la vía de Wnt/ β -catenina está involucrada en la proliferación y en la progresión de las células de cáncer y, además promueve resistencia a la quimioterapia en el CCR (Huang et al., 2024). La señalización anormal de Wnt/ β -catenina, provoca un aumento de la translocación nuclear de β -catenina y la formación de un complejo con el factor de células T/factor potenciador linfóide para mediar la expresión del gen diana (Feng et al., 2023). A través de la técnica de inmunohistoquímica y de acuerdo a los resultados obtenidos anteriormente (Martín et al., 2018), observamos que PTHrP *in vivo* incrementa los niveles proteicos de β -catenina aún en presencia de oxaliplatino. El conjunto de estos datos sugiere que PTHrP podría favorecer la quimiorresistencia al oxaliplatino mediante la vía de β -catenina.

Los datos aquí aportados merecen profundizar el estudio sobre el fenómeno de quimiorresistencia inducido por PTHrP en el CCR y los mecanismos moleculares involucrados.

Conclusión

En modelos *in vitro* e *in vivo* de CCR PTHrP participaría en la quimiorresistencia al oxaliplatino a través de factores liberados del MT.

Referencias

- Alimohammadi, R., Mahmoodi Chalbatani, G., Alimohammadi, M., Ghaffari-Nazari, H., Rahimi, A., Mortaz, E., Mossafa, N., Boon, L., y Jalali, S. A. (2023). Dual blockage of both PD-L1 and CD47 enhances the therapeutic effect of oxaliplatin and FOLFOX in CT-26 mice tumor model. *Scientific reports*, 13(1), 2472.
- Alsina-Sanchis, E., Mülfarth, R., y Fischer, A. (2021). Control of Tumor Progression by Angiocrine Factors. *Cancers*, 13(11), 2610.
- Arneth, B. (2019). Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(1), 15.
- Briede, I., Balodis, D., Gardovskis, J., y Strumfa, I. (2021). Stemness, Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Colorectal Carcinoma: The Intricate Network. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12891.
- Calvo, N., Martín, J., Russo de Boland, A., y Gentili, C. (2014). Involvement of ERK1/2, P38 MAPK, and PI3K/Akt Signaling Pathways in the Regulation of Cell Cycle Progression by PTHrP in Colon Adenocarcinoma Cells. *Biochemistry and Cell Biology* 92 (4): 305–15.
- Calvo, N., Carriere, P., Martin, M. J., y Gentili, C. (2017). RSK activation via ERK modulates human colon cancer cells response to PTHrP. *Journal of molecular endocrinology*, 59(1), 13–27.

- Calvo, N., Carriere, P., Martín, M. J., Gigola, G., y Gentili, C. (2019). PTHrP treatment of colon cancer cells promotes tumor associated-angiogenesis by the effect of VEGF. *Molecular and cellular endocrinology*, 483, 50–63.
- Cardoso, A., Pinto, M., Pinto, A., Oliveira, M., Pinto, M., Gonçalves, R., Relvas, J., Figueiredo, C., Seruca, R., Mantovani, A., Mareel, M., Barbosa, M., y Oliveira, M. (2014). Macrophages stimulate gastric and colorectal cancer invasion through EGFR Y(1086), c-Src, Erk1/2 and Akt phosphorylation and smallGTPase activity. *Oncogene*, 33(16), 2123–2133.
- Carriere, P., Calvo, N., Novoa Díaz, M. B., Lopez-Moncada, F., Herrera, A., Torres, M. J., Alonso, E., Gandini, N. A., Gigola, G., Contreras, H. R., y Gentili, C. (2021). Role of SPARC in the epithelial-mesenchymal transition induced by PTHrP in human colon cancer cells. *Molecular and cellular endocrinology*, 530, 111253.
- Chai, W. X., Sun, L. G., Dai, F. H., Shao, H. S., Zheng, N. G., y Cai, H. Y. (2019). Inhibition of PRRX2 suppressed colon cancer liver metastasis via inactivation of Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Pathology, research and practice*, 215(10), 152593.
- C de S L Oliveira, A. L., Araújo Júnior, R. F., Gomes de Carvalho, T., B Chan, A., Schomann, T., Tamburini, F., de Geus-Oei, L. F., y J Cruz, L. (2020). Effect of Oxaliplatin-Loaded Poly (d,l-Lactide-co-Glycolic Acid) (PLGA) Nanoparticles Combined with Retinoic Acid and Cholesterol on Apoptosis, Drug Resistance, and Metastasis Factors of Colorectal Cancer. *Pharmaceutics*, 12(2), 193.
- de Carvalho, T., Lara, P., Jorquera-Cordero, C., Aragão, C., de Santana Oliveira, A., Garcia, V., de Paiva Souza, S., Schomann, T., Soares, L., da Matta Guedes, P., y de Araújo Júnior, R. (2023). Inhibition of murine colorectal cancer metastasis by targeting M2-TAM through STAT3/NF- κ B/AKT signaling using macrophage 1-derived extracellular vesicles loaded with oxaliplatin, retinoic acid, and Libidibia ferrea. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 168, 115663.
- Dunn, E. F., Iida, M., Myers, R. A., Campbell, D. A., Hintz, K. A., Armstrong, E. A., Li, C., Y Wheeler, D. L. (2011). Dasatinib sensitizes KRAS mutant colorectal tumors to cetuximab. *Oncogene*, 30(5), 561–574.
- Erdem, Z., Schwarz, S., Drev, D., Heinzle, C., Reti, A., Heffeter, P., Hudec, X., Holzmann, K., Grasl-Kraupp, B., Berger, W., Grusch, M., y Marian, B. (2017). Irinotecan Upregulates Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Expression in Colorectal Cancer Cells, Which Mitigates Irinotecan-Induced Apoptosis. *Translational oncology*, 10(3), 332–339.
- Feng, W. Q., Zhang, Y. C., Gao, H., Li, W. C., Miao, Y. M., Xu, Z. F., Xu, Z. Q., Zhao, J. K., Zheng, M. H., Zong, Y. P., y Lu, A. G. (2023). FOXD1 promotes

- chemotherapy resistance by enhancing cell stemness in colorectal cancer through β -catenin nuclear localization. *Oncology reports*, 50(1), 134.
- Funk, J. L., Krul, E. J., Moser, A. H., Shigenaga, J. K., Strewler, G. J., Grunfeld, C., y Feingold, K. R. (1993). Endotoxin increases parathyroid hormone-related protein mRNA levels in mouse spleen. Mediation by tumor necrosis factor. *The Journal of clinical investigation*, 92(5), 2546–2552.
- Gagiannis, S., Müller, M., Uhlemann, S., Koch, A., Melino, G., Krammer, P. H., Nawroth, P. P., Brune, M., y Schilling, T. (2009). Parathyroid hormone-related protein confers chemoresistance by blocking apoptosis signaling via death receptors and mitochondria. *International journal of cancer*, 125(7), 1551–1557
- Garona, J., Sobol, N. T., Pifano, M., Segatori, V. I., Gomez, D. E., Ripoll, G. V., y Alonso, D. F. (2019). Preclinical Efficacy of [V4 Q5] dDAVP, a Second Generation Vasopressin Analog, on Metastatic Spread and Tumor-Associated Angiogenesis in Colorectal Cancer. *Cancer research and treatment*, 51(2), 438–450.
- Hasbal-Celikok, G., Aksoy-Sagirli, P., Altiparmak-Ulbeği, G., y Can, A. (2021). Identification of AKT1/ β -catenin mutations conferring cetuximab and chemotherapeutic drug resistance in colorectal cancer treatment. *Oncology letters*, 21(3), 209.
- Huang, Y., Chan, S., Chen, S., Liu, X., Li, M., Zheng, L., Dong, Z., Yang, Z., Liu, Z., Zhou, D., Zhang, X., y Zhang, B. (2024). Wnt/ β -catenin signalling activates IMPDH2-mediated purine metabolism to facilitate oxaliplatin resistance by inhibiting caspase-dependent apoptosis in colorectal cancer. *Journal of translational medicine*, 22(1), 133.
- Lamarca, A., Ronot, M., Moalla, S., Crona, J., Opalinska, M., Lopez Lopez, C., Pezzutti, D., Najran, P., Carvalho, L., Bezerra, R. O. F., Borg, P., Vietti Violi, N., Vidal Trueba, H., de Mestier, L., Scafer, N., Baudin, E., Sundin, A., Costa, F., Pavel, M., y Dromain, C. (2019). Tumor Growth Rate as a Validated Early Radiological Biomarker Able to Reflect Treatment-Induced Changes in Neuroendocrine Tumors: The GREPONET-2 Study. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 25(22), 6692–6699.
- Lezcano, V., Gentili, C., y de Boland, A. R. (2013). Role of PTHrP in human intestinal Caco-2 cell response to oxidative stress. *Biochimica et biophysica acta*, 1833(12), 2834–2843.
- Li J., Karaplis A., Huang D., Siegel P., Camirand A., Yang X., Muller W., y Kremer R. (2011). PTHrP drives breast tumor initiation, progression, and metastasis in mice and is a potential therapy target. *J Clin Invest*, 121: 4655-4669.
- Luo, Z. D., Wang, Y. F., Zhao, Y. X., Yu, L. C., Li, T., Fan, Y. J., Zeng, S. J., Zhang, Y. L., Zhang, Y., y Zhang, X. (2023).

- Emerging roles of non-coding RNAs in colorectal cancer oxaliplatin resistance and liquid biopsy potential. *World journal of gastroenterology*, 29(1), 1–18.
- Ma, S. C., Zhang, J. Q., Yan, T. H., Miao, M. X., Cao, Y. M., Cao, Y. B., Zhang, L. C., y Li, L. (2023). Novel strategies to reverse chemoresistance in colorectal cancer. *Cancer medicine*, 12(10), 11073–11096.
- McCauley, L. K., y Martin, T. J. (2012). Twenty-five years of PTHrP progress: from cancer hormone to multifunctional cytokine. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 27(6), 1231–1239.
- Mahdi, H., Woodall-Jappe, M., Singh, P., y Czuczman, M. (2023). Targeting regulatory T cells by E7777 enhances CD8 T-cell-mediated anti-tumor activity and extends survival benefit of anti-PD-1 in solid tumor models. *Frontiers in immunology*, 14, 1268979.
- Maishi, N., Annan, D. A., Kikuchi, H., Hida, Y., y Hida, K. (2019). Tumor Endothelial Heterogeneity in Cancer Progression. *Cancers*, 11(10), 1511.
- Malakouti, S., Asadi, F. K., Kukreja, S. C., Abcarian, H. A., y Cintron, J. R. (1996). Parathyroid hormone-related protein expression in the human colon: immunohistochemical evaluation. *The American surgeon*, 62(7), 540–545.
- Martín, M. J., Calvo, N., de Boland, A. R., y Gentili, C. (2014). Molecular mechanisms associated with PTHrP-induced proliferation of colon cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*, 115(12), 2133–2145.
- Martín, M., Gigola, G., Zwenger, A., Carriquiriborde, M., Gentil, F., y Gentili, C. (2018). Potential therapeutic targets for growth arrest of colorectal cancer cells exposed to PTHrP. *Molecular and cellular endocrinology*, 478, 32–44.
- Nagaraju, G., Alese, O., Landry, J., Diaz, R., y El-Rayes, B. (2014). HSP90 inhibition downregulates thymidylate synthase and sensitizes colorectal cancer cell lines to the effect of 5FU-based chemotherapy. *Oncotarget*, 5(20), 9980–9991.
- NISHIHARA, M., T. KANEMATSU, T. TAGUCHI, and M. S. RAZZAQUE. 2007. PTHrP and Tumorigenesis: Is There a Role in Prognosis? *Annals of the New York Academy of Sciences* 1117 (1): 385–92.
- Nishihara, Minoru, Masahiro Ito, Tsutomu Tomioka, Akira Ohtsuru, Takashi Taguchi, y Takashi Kanematsu. 1999. “Clinicopathological Implications of Parathyroid Hormone-Related Protein in Human Colorectal Tumours.” *The Journal of Pathology* 187 (2): 217–22.
- Novoa Díaz, M.B., Carriere, P., Gigola, G., Zwenger, A., Calvo, N., y Gentili, C. (2022). Involvement of Met receptor pathway in aggressive behavior of colorectal cancer cells induced by parathyroid hormone-related peptide. *World journal of gastroenterology*, 28(26), 3177–3200.
- Novoa Díaz, M. B., Carriere, P., & Gentili, C. (2023). How the interplay among the tumor microenvironment and the gut

- microbiota influences the stemness of colorectal cancer cells. *World journal of stem cells*, 15(5), 281–301.
- Panaampon, J., Sasamoto, K., Kariya, R., y Okada, S. (2021). Establishment of Nude Mice Lacking NK Cells and Their Application for Human Tumor Xenografts. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 22(4), 1069–1074.
- Rian, E., Jemtland, R., Olstad, O., Endresen, M., Grasser, W., Thiede, M., Henriksen, T., Bucht, E., y Gautvik, K. (1994). Parathyroid hormone-related protein is produced by cultured endothelial cells: a possible role in angiogenesis. *Biochemical and biophysical research communications*, 198(2), 740–747.
- Ripoll, G. V., Garona, J., Pifano, M., Farina, H. G., Gomez, D. E., & Alonso, D. F. (2013). Reduction of tumor angiogenesis induced by desmopressin in a breast cancer model. *Breast cancer research and treatment*, 142(1), 9–18.
- Ryu, K., Seo, J., Lee, K., Choi, J., Yoo, G., Ha, J., y Ahn, M. (2024). Drug-Resistance Biomarkers in Patient-Derived Colorectal Cancer Organoid and Fibroblast Co-Culture System. *Current issues in molecular biology*, 46(6), 5794–5811.
- Sato, Y., Fu, Y., Liu, H., Lee, M., y Shaw, M. (2021). Tumor-immune profiling of CT-26 and Colon 26 syngeneic mouse models reveals mechanism of anti-PD-1 response. *BMC cancer*, 21(1), 1222.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., y Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249.
- Wang, P., Sun, L., Li, C., Jin, B., Yang, H., Wu, B., y Mao, Y. (2023). Study on drug screening multicellular model for colorectal cancer constructed by three-dimensional bioprinting technology. *International journal of bioprinting*, 9(3), 694.
- Xu, J., Lv, G., Xu, B., y Jiang, B. (2020). Overexpression of UBE2M through Wnt/β-Catenin signaling is associated with poor prognosis and chemotherapy resistance in colorectal cancer. *Translational cancer research*, 9(9), 5614–5625.
- Yang, Y., Yuan, H., Zhao, L., Guo, S., Hu, S., Tian, M., Nie, Y., Yu, J., Zhou, C., Niu, J., Wang, G., y Song, Y. (2022). Targeting the miR-34a/LRPPRC/MDR1 axis collapse the chemoresistance in P53 inactive colorectal cancer. *Cell death and differentiation*, 29(11), 2177–2189.
- Zeng, K., Li, W., Wang, Y., Zhang, Z., Zhang, L., Zhang, W., Xing, Y., y Zhou, C. (2023). Inhibition of CDK1 Overcomes Oxaliplatin Resistance by Regulating ACSL4-mediated Ferroptosis in Colorectal Cancer. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany)*, 10(25), e2301088.
- Zhang R., Li J., Assaker G., Camirand A., Sabri S., Karaplis A., y Kremer R. (2019). Parathyroid Hormone-Related

Protein (PTHrP): An Emerging Target in
Cancer Progression and Metastasis.

Adv Exp Med Biol, 1164: 161-178.

-Zhong, X., He, X., Wang, Y., Hu, Z., Huang, H.,
Zhao, S., Wei, P., y Li, D. (2022).
Warburg effect in colorectal cancer: the
emerging roles in tumor
microenvironment and therapeutic
implications. *Journal of hematology &
oncology*, 15(1), 160.

Financiamiento

Universidad Nacional del Sur (UNS): PGI:
24/B303; AGENCIA (PICT-2020-SERIEA-
03440); CONICET (PIP
11220200103061CO).

D. Ciencias de la vida

39. Salud Humana

La inhibición del eje Heparanasa-1/Syndecan-1 en Cáncer de Mama Triple Negativo (TNBC) reduce la plasticidad tumoral y estimula el desarrollo de un entorno inflamatorio antitumoral

Autor: Rosales, Paolo, paolorosales14@gmail.com

Co-autor(es): Morán Candela, cmoranmaidana@comunidad.unnoba.edu.ar, Latina Catalina, clatina@comunidad.unnoba.edu.ar, Icardi Antonella, aicardi@comunidad.unnoba.edu.ar

Orientadores: Vitale Daiana, dlvitale@comunidad.unnoba.edu.ar; Sevic Ina, isevic@comunidad.unnoba.edu.ar; Götte Martin, martin.goette@ukmuenster.de; Espinoza-Sánchez Nancy Adriana, nancyadriana.espinozasanchez@ukmuenster.de; Dr. Alaniz Laura, lalaniz@comunidad.unnoba.edu.ar.

Laboratorio de Microambiente Tumoral, Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas (CIBA) - Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires – Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA) UNNOBA-UNSA-CONICET Argentina. Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario Münster - Münster, Alemania.

Resumen

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es uno de los subtipos más agresivos y carece de terapias dirigidas, siendo la quimioterapia la única opción sistémica eficaz, aunque limitada por su toxicidad, resistencia tumoral y altas tasas de recurrencia y metástasis. Una estrategia prometedora es la interrupción del eje Heparanasa-1/Syndecan-1 (HPSE-1/SDC-1), involucrado en la remodelación de la matriz extracelular (MEC), comunicación con células del sistema inmune, migración e invasión. El objetivo fue evaluar cómo la inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 influye en células de TNBC y en su relación con monocitos/macrófagos (Mo/M ϕ) de su microambiente. Células MDA-MB-231 fueron tratadas con siPools *SDC-1* y Roneparstat (SST0001) como inhibidor de HPSE-1. Se midió viabilidad (MTS), clonogenicidad (Formación de colonias), migración (Cierre de herida) y expresión génica (RT-qPCR) de mediadores vinculados a MEC, transición epitelial-mesenquimal (EMT) y fenotipo “stem”, incluyendo cocultivos con Mo de donantes sanos. El tratamiento incrementó la expresión de *SDC-2*, genes “stem” (*CD24*, *CD44*), aumentó *ITG- β 1* y disminuyó *CHD1* (genes EMT), redujo *SDF-1* (inmunoatrayente) y aumentó la clonogenicidad y migración ($p < 0,05$). La inhibición de este eje podría estar activando otras vías de supervivencia celular, probablemente vía *SDC-2*.

Por el contrario, en cocultivo, la expresión de genes “stem” y EMT disminuyó mientras que aumentó la expresión de *SDF-1*. Además, Mo/Mø cocultivados con MDA-MB-231 pre-tratadas, mostraron mayor expresión de genes de remodelación de MEC y polarización M1 antitumoral. Por lo cual, la inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 impacta en la remodelación de la MEC y favorece la activación del sistema inmune en el microambiente del TNBC potenciando posibles respuestas antitumorales.

Palabras clave: TNBC, HPSE-1/SDC-1, Terapia combinada

1. Introducción

El cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente y la causa más común de muerte por cáncer en mujeres, tanto a nivel mundial como en nuestro país (Global Cancer Observatory, <https://gco.iarc.fr/en>).

Teniendo en cuenta la presencia o ausencia de tres marcadores moleculares como el receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) y el factor 2 de crecimiento epidérmico humano (HER2), el cáncer de mama puede clasificarse en cuatro subtipos: **(a)** luminal A (ER+/PR+/HER2-), **(b)** luminal B (ER+/PR-/HER2+), **(c)** tipo basal (ER- /PR- /HER2-) también llamado triple negativo (TNBC), y **(b)** HER2 enriquecido (ER- /PR- /HER2+). En la práctica clínica, estos subtipos permiten estratificar a los pacientes para obtener predicciones pronósticas, seleccionar tratamientos e incluirlos en ensayos clínicos (Parnigoni et al., 2023; Waks & Winer, 2019). A pesar de los riesgos asociados a corto y largo plazo, la quimioterapia sigue siendo la única terapia sistémica eficaz para el tratamiento del subtipo TNBC. Sin embargo, se ha demostrado una alta proporción de pacientes con TNBC con resistencia a la quimioterapia y, por consiguiente, una alta agresividad y altas tasas de recurrencia, riesgo de metástasis y falta de marcadores moleculares diana para la terapia (van den Ende et al., 2023).

Debido a esto, es necesario desarrollar nuevos tratamientos que complementen a los actuales, que estén dirigidos no solo a las células tumorales sino también a su entorno o microambiente, previniendo la exposición del paciente a múltiples ciclos de quimioterapia, reduciendo así toxicidad y costos asociados.

El microambiente tumoral es el entorno donde se desarrolla el tumor y está formado por componentes celulares (células tumorales, células inmunes, fibroblastos, entre otros) y acelulares (MEC). La interacción de las células tumorales con el microambiente es clave para su desarrollo y progresión, metástasis y diseminación, afectando además la eficacia terapéutica de los tratamientos (Wu & Dai, 2016).

Dentro de los elementos acelulares, la enzima HPSE-1 es una endo- β -glucuronidasa capaz de degradar cadenas de Heparán Sulfato (HS) de proteoglicanos (PGs) presentes en la MEC (Yuan et al., 2022), facilitando la remodelación de la MEC tumoral. Específicamente, se ha demostrado que la actividad de esta enzima está asociada a la progresión tumoral, angiogénesis e inflamación, convirtiéndola en un blanco terapéutico prometedor (Lebsir et al., 2023). Se ha reportado además la existencia de una segunda forma de la HPSE, la Heparanasa2 (HPSE-2), que si bien carece de la capacidad de degradar

HS, compete con HPSE-1 por la unión a éste. (Vlodavsky et al., 2018).

La principal explicación que relaciona a la HPSE-1 con la progresión tumoral involucra al eje HPSE-1/SDC-1 liberado. SDC-1 (CD138) es un PG de HS transmembrana que actúa como correceptor celular. Se ha demostrado que este eje, a través de la liberación de SDC-1, aumenta cascadas de señalización tanto en células tumorales como de su microambiente (entre ellas, células endoteliales, fibroblastos y células inmunes) (Ramani et al., 2013; Szatmári et al., 2015). La HPSE-1 estimula las quinasas reguladas por señal extracelular (vía ERK) en células tumorales, provocando un aumento en la expresión de las metaloproteasas (MMPs) 3, 7 y 9. Cuando estas enzimas son secretadas, cortan el núcleo proteico de SDC-1 resultando en su liberación de la superficie celular. Además, la HPSE-1 corta las cadenas de HS del SDC-1, dejando el núcleo proteico de éste libre para la degradación por las MMPs. Una vez que el SDC-1 es liberado puede actuar de forma autocrina o paracrina, formando complejos con factores de crecimiento, factores angiogénicos y citoquinas, promoviendo la comunicación con las células del sistema inmune, angiogénesis, migración e invasión (Nassar et al., 2021; Rangarajan et al., 2020; Vlodavsky et al., 2018).

Más aún, se ha demostrado que en el cáncer de mama existe un aumento de

SDC-1 en la membrana de células tumorales y en las células estromales adyacentes al tumor, especialmente en aquellos con un fenotipo agresivo e invasivo (Szatmári et al., 2015). Sin embargo, poco se conoce acerca de los efectos de la inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 en el cáncer de mama. En este contexto, la inhibición conjunta de la actividad de HPSE-1 y de la síntesis de SDC-1 podría representar una estrategia terapéutica prometedora en combinación con fármacos quimioterapéuticos para el tratamiento del TNBC, constituyendo el objetivo principal del presente trabajo.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar el rol de los componentes de la MEC, SDC-1 y la enzima HPSE-1 en el desarrollo y progresión del TNBC, con el fin de evaluar su potencial como futuros blancos terapéuticos.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Evaluar el efecto de la inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 sobre células TNBC, estudiando mecanismos asociados a la progresión e invasión tumoral.

2.2.2 Evaluar el efecto de la inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 sobre la interacción de células TNBC con células inmunes de su

microambiente
(Monocitos/Macrófagos [Mo/MØ])
mediante un modelo de cocultivo *in vitro*.

3. Materiales y Métodos

3.1 Línea celular: se trabajó con la línea celular MDA-MB-231 de TNBC con alta capacidad de invasividad y metástasis. Las células fueron cultivadas en medio DMEM alta glucosa, suplementado con Glutamina (2mM), Penicilina/Streptomicina (100 U/mL) y Suero Fetal Bovino (SFB) 10%. Se cultivaron en condiciones estándar de cultivo (37°C y 5% CO₂) y una vez alcanzada la fase exponencial del cultivo, fueron utilizadas para los diferentes experimentos.

3.2 Modulación del eje HPSE-1/SDC-1. Se llevó a cabo el silenciamiento (knock-down) del gen de SDC-1 y la inhibición de la actividad de la enzima HPSE-1. Para el knock-down, se utilizó siPOOLS Biotech (siRNA pools), el cual contiene 30 siRNAs seleccionados y diseñados para el knock-down específico del gen de interés. La transfección se llevó a cabo utilizando lipofectamina (Lipofectamine 2000, Invitrogen) y medio Opti-MEM reducido en SFB. Como control de la transfección se utilizó un siRNA control no específico (NegC-120). La inhibición de la actividad enzimática de HPSE-1 se llevó a cabo utilizando el compuesto

Roneparstat (SST0001) (Technion), un polímero semi sintético tipo heparina. Desarrollamos un protocolo de cinco días en el cual al día 0 sembramos las células MDA-MB-231 (3,5x10⁵) en placas de 6 pocillos para su adherencia y estabilización. Al día 1 llevamos a cabo el knock-down de SDC-1 durante 24h. Al día 2 añadimos el inhibidor de HPSE-1 durante 24h. Al día 3 realizamos el cambio de medio de cultivo para igualar todas las

condiciones. El protocolo desarrollado se resume en la **Figura 1.A**.

Al día 4, las células fueron utilizadas para los experimentos descriptos a continuación.

3.3 Ensayo de viabilidad (MTS). Para evaluar la viabilidad celular luego de los tratamientos, se llevó a cabo un ensayo MTS en el cual células MDA-MB-231 previamente tratadas fueron incubadas con el reactivo MTS (Abcam) por 2 horas y se midió el cambio en la coloración a 490 nm, utilizando el lector de placas iMark™ (Bio-Rad).

3.4 Ensayo de formación de colonias. Para evaluar la habilidad de las células MDA-MB-231 previamente tratadas, de proliferar y formar una colonia, 1x10³ células se sembraron en placas de 6 pocillos y se mantuvieron en cultivo durante 9 días, realizando cambios de medio cada 2 días. Finalizado el tiempo de incubación, las células se lavaron con PBS, se fijaron con PFA 2% y se tiñeron con cristal violeta

0,5%/metanol 20%. Se determinó manualmente el número de colonias formadas por condición.

3.5 Ensayo de cierre de herida. Para evaluar la migración celular y las interacciones célula-célula en 2D, se llevó a cabo un ensayo de cierre de herida. Para ello, finalizado los tratamientos, se realizó el cambio de medio de cultivo por medio sin SFB y se generaron 3 heridas en la monocapa celular por condición, tomándose micrografías a los tiempos 0, 4, 8 y 24 (hs) y se calculó el porcentaje (%) de área libre con la herramienta ImageJ. Como control positivo de cierre de herida, las células fueron incubadas durante el mismo tiempo en medio rico en SFB 10%.

3.6 Expresión de genes marcadores de Agresividad. Para evaluar los niveles de expresión a nivel de ARNm de distintos genes asociados a la MEC (*HPSE-1*, *HPSE-2*, *MMP9*, *SDC-1*, *SDC-2*, *SDC-3*, *SDC-4*), ETM (E-Cadherina: *CDH1*, *Integrina β 1*: *ITGB-1*, *Vimentina*: *VIM*) y fenotipo asociado a características “stem” (células madre cancerosas; *CD44*, *CD24*), se llevó a cabo una PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR). Brevemente, finalizado los tratamientos, se extrajo el ARN total utilizando TRI reagent y el método fenol-cloroformo. Luego se realizó la transcripción reversa (RT) a ADN copia en termociclador Veriti (Applied Biosystems) y finalmente, utilizando primers específicos para cada gen de interés, se realizó la qPCR con

SYBR Green en termociclador CFX96™ Real Time System (BioRad). La expresión relativa de cada gen se calculó mediante el método $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ utilizando β -Actina como gen de referencia (housekeeping).

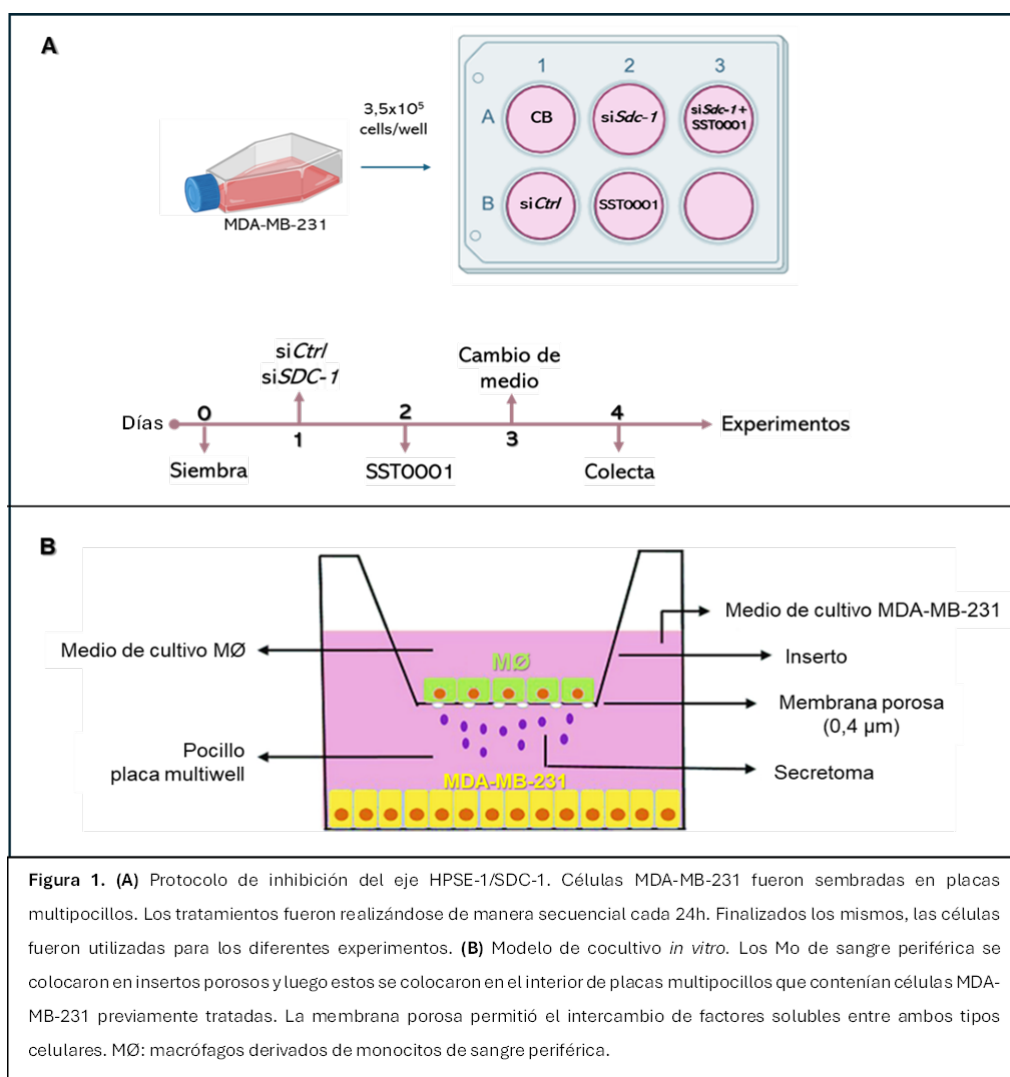
3.7 Modelo de cocultivo in vitro. Para evaluar la influencia de los componentes celulares en el microambiente tumoral, se llevó a cabo un cocultivo *in vitro* entre las células MDA-MB-231 y Mo de sangre periférica de dadores sanos. Brevemente se purificaron células mononucleares de sangre periférica mediante gradiente de Ficoll (Ficoll-Paque PLUS, Cytiva) y se enriquecieron Mo por selección negativa (Pan Monocyte Isolation Kit, Miltenyi Biotec). Los monocitos se sembraron en insertos con poros de 0,4 μ m de diámetro (cellQART®), en medio RPMI suplementado con Glutamina (2 mM), Penicilina/Streptomycin (100 U/mL) y SFB 1%. Luego, estos insertos se colocaron en placas multipocillo que

contenían las células MDA-MB-231 previamente cultivadas y tratadas. De esta forma, ambas poblaciones celulares (relación 1:1) pudieron interactuar de manera indirecta, a través del intercambio de factores solubles (secretoma) (**Figura 1.B**). Luego de 5 días de cocultivo, se cosecharon ambos tipos celulares y se evaluó la expresión de genes de interés por RT-qPCR, tal como se describió en 3.6. Para las células MDA-MB-231, se evaluaron los mismos genes descritos en 3.6. Para los MØ, se evaluaron componentes de

la MEC (*HPSE-1*, *HPSE-2*, *SDC-1*, *SDC-2*, *SDC-3*, *SDC-4*), marcadores de diferenciación Mo→MØ (GM-CSF, CD68), marcadores del perfil M1 inflamatorio/antitumoral (*CD68*, *CD86*, *iNOS*, *IL-1β*), marcadores del perfil M2 antiinflamatorio/protumoral (*CD163*, *ARGINASA-1*, *IL-10*) y receptores y componentes de la vía de señalización inflamatoria NF-κB (*CD44*, *TLR-2*, *TLR-4*, *P50*, *P65*, *RELB*, *STAT-1*, *STAT-5*).

3.8 Análisis de asociación de proteínas.

Para explorar la relación entre el eje HPSE-1/SDC-1 y otras proteínas, así como con



componentes de vías de señalización implicadas en cáncer de mama, se realizó un análisis *in silico* mediante la herramienta STRING. Como entrada se utilizaron HPSE-1, SDC-1, los marcadores evaluados en el apartado 3.6 y proteínas representativas de las vías de señalización MAPK y PI3K/AKT/mTOR. La herramienta genera un mapa de redes de interacción proteica junto con un análisis de enriquecimiento de las vías KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), que evidencia los procesos celulares en los que participan los marcadores ingresados.

3.9 Análisis estadísticos. Se determinará la media y la varianza de al menos tres experimentos independientes,

determinando en todos los casos la normalidad y la homogeneidad de la varianza de los datos. Se utilizará el análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias entre los valores obtenidos en cada grupo. Para dicho fin, se utilizará el software GraphPadPrism 10, considerando un valor $p \leq 0,05$ como estadísticamente significativo.

4. Resultados

Inhibición de la expresión de SDC-1. En primer lugar, se evaluó la eficiencia del knock-down de *SDC-1* tanto a nivel de ARNm como de proteína. Los resultados mostraron una reducción significativa ($85 \pm 4\%$ siSDC-1 y $82 \pm 6\%$ siSDC-1 + SST0001)

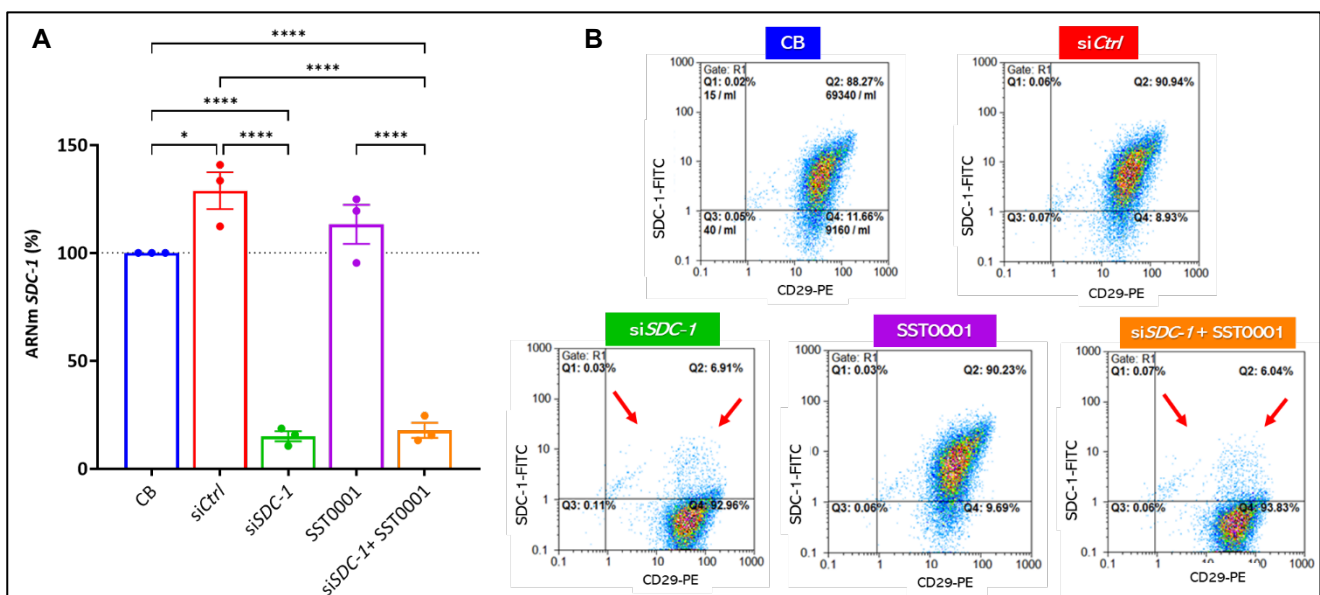


Figura 2. Eficiencia del silenciamiento de SDC-1. **(A)** Niveles relativos de ARNm de SDC-1 cuantificados por qPCR en células MDA-MB-231 tratadas con siPool control (siCtrl), siPool dirigido contra *SDC-1* (siSDC-1), inhibidor de la actividad HPSE-1 (SST0001), o la combinación siSDC-1 y SST0001. Los resultados se expresan como porcentaje respecto al control basal (CB). Los datos se presentan como media $\pm$ SEM ($n = 3$). Análisis estadístico mediante ANOVA de una vía seguido de una prueba Tukey de comparaciones múltiples. La significancia estadística se muestra de la siguiente manera: ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. **(B)** Expresión de SDC-1 a nivel de membrana evaluado por citometría de flujo en las mismas condiciones experimentales. Los diagramas de dispersión muestran la población positiva para CD29-PE (Integrina β 1, eje X) y la expresión de SDC-1-FITC (eje Y). Las flechas rojas indican la disminución de la población SDC-1 positiva tras el tratamiento con siSDC-1 y la combinación siSDC-1 + SST0001.

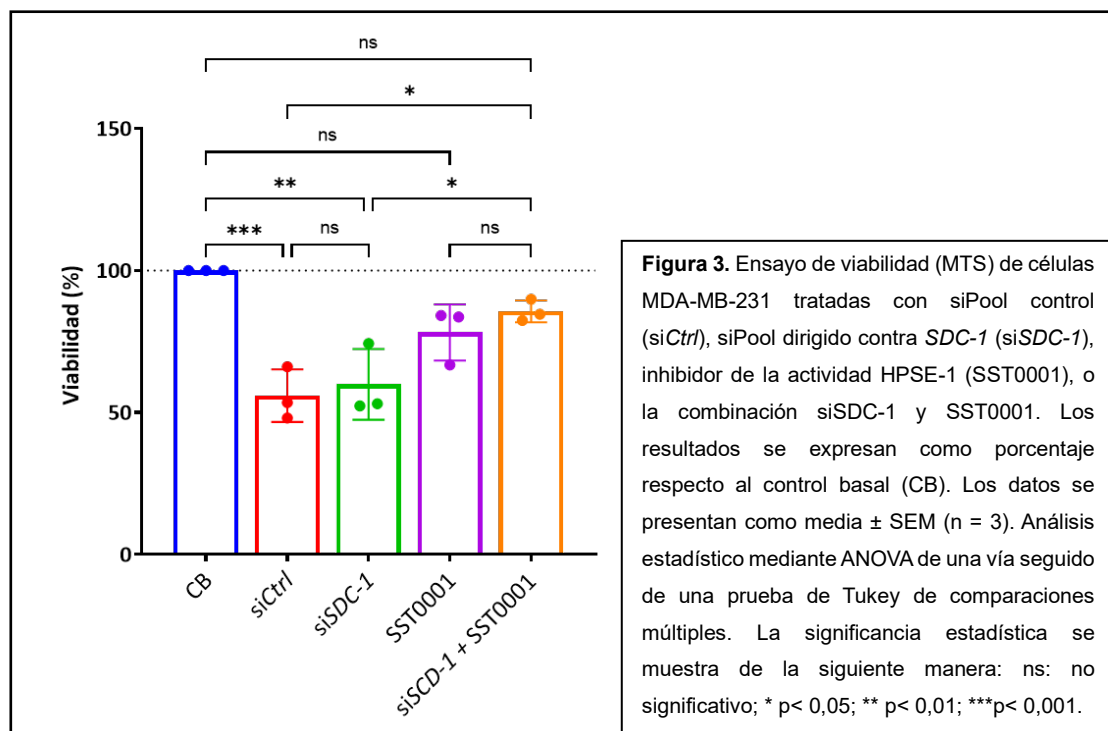
en la expresión de SDC-1 tras la transfección, en comparación con las células no tratadas o transfectadas con siCtrl ($p < 0,0001$) (**Fig. 2A**). Asimismo, el análisis por citometría de flujo mostró una disminución de la población SDC-1+ (Q2) luego de la transfección, en relación con los controles mencionados previamente (**Fig. 2B**). Estos hallazgos confirmaron que el knock-down fue efectivo, garantizando que se trabajó con células sin expresión de SDC-1.

4.1 Ensayo de viabilidad (MTS). El proceso de transfección con lipofectamina redujo la viabilidad de las células en comparación con aquellas no transfectadas (CB vs siCtrl $p = 0,0006$; CB vs siSDC-1 $p = 0,0012$). En cambio, el tratamiento con SST0001 o con la combinación siSDC-1 + SST0001 no produjo una disminución significativa de la viabilidad respecto de las células no

tratadas. De hecho, la combinación siSDC-1 + SST0001 logró revertir parcialmente la disminución en la viabilidad observada tras la transfección (**Fig. 3**).

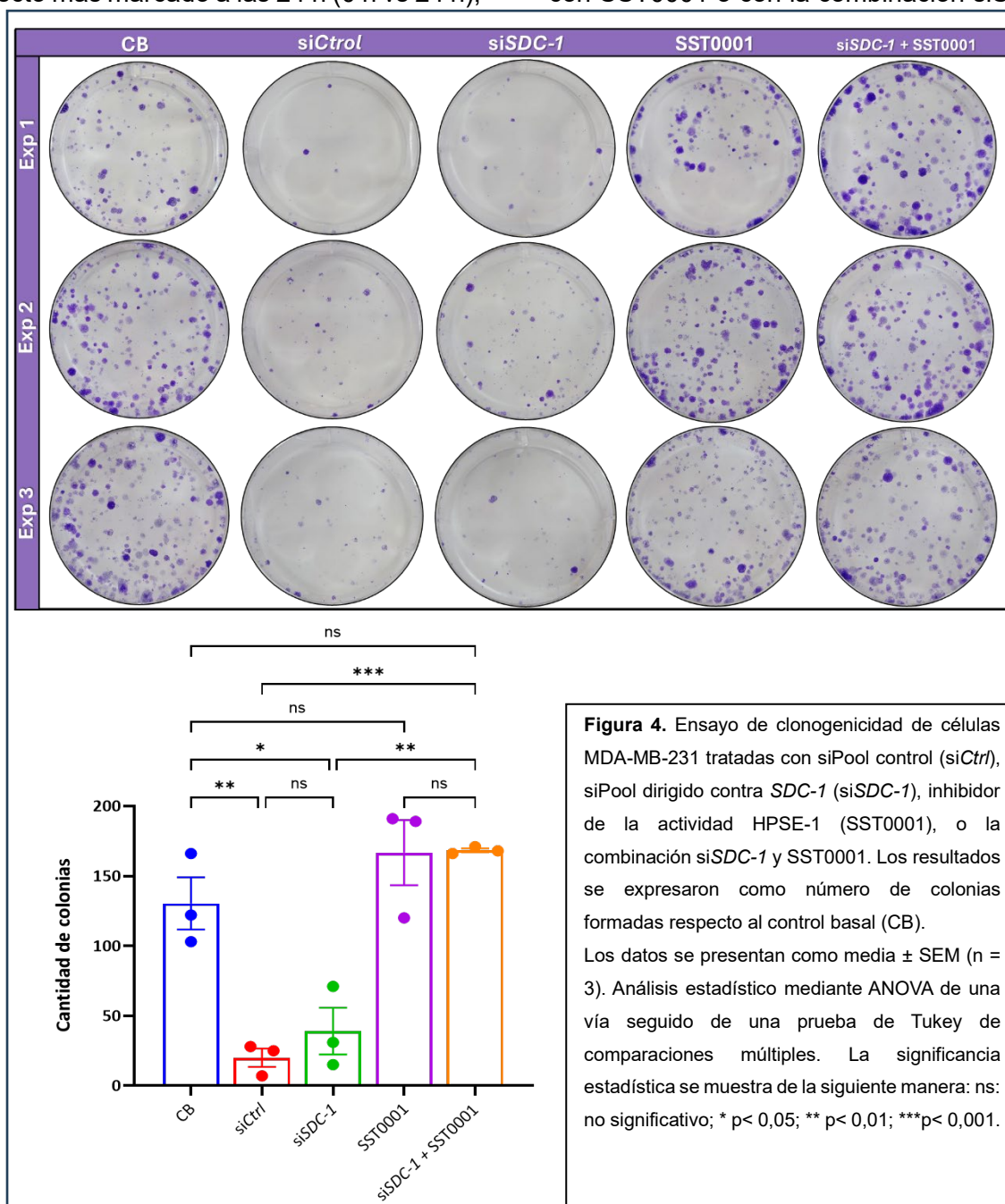
4.2 Ensayo de formación de colonias. Se observó que las condiciones siCtrl y siSDC-1 redujeron la capacidad de formación de colonias en comparación con las células sin tratamiento. No obstante, la combinación siSDC-1 + SST0001 revirtió este efecto, mostrando un comportamiento similar al control basal (CB). Por otro lado, el tratamiento exclusivo con SST0001 no produjo diferencias significativas en el número de colonias respecto del CB (**Fig.4**).

4.3 Ensayo cierre de herida. Para evaluar el efecto de los tratamientos, del tiempo de cierre de herida y de la interacción entre ambos factores sobre la capacidad migratoria de células MDA-MB-231 (**Fig. 5A**), se realizó un ANOVA de dos vías. El



análisis reveló que la mayor proporción de la variabilidad estuvo explicada por el factor tiempo, seguido en menor medida por el tratamiento y por la interacción entre ambos (64,06%, 15,95% y 9,28% de la varianza total, respectivamente). En consecuencia, el tiempo se estableció como el principal determinante del cierre de herida, con un efecto más marcado a las 24 h (0 h vs 24 h),

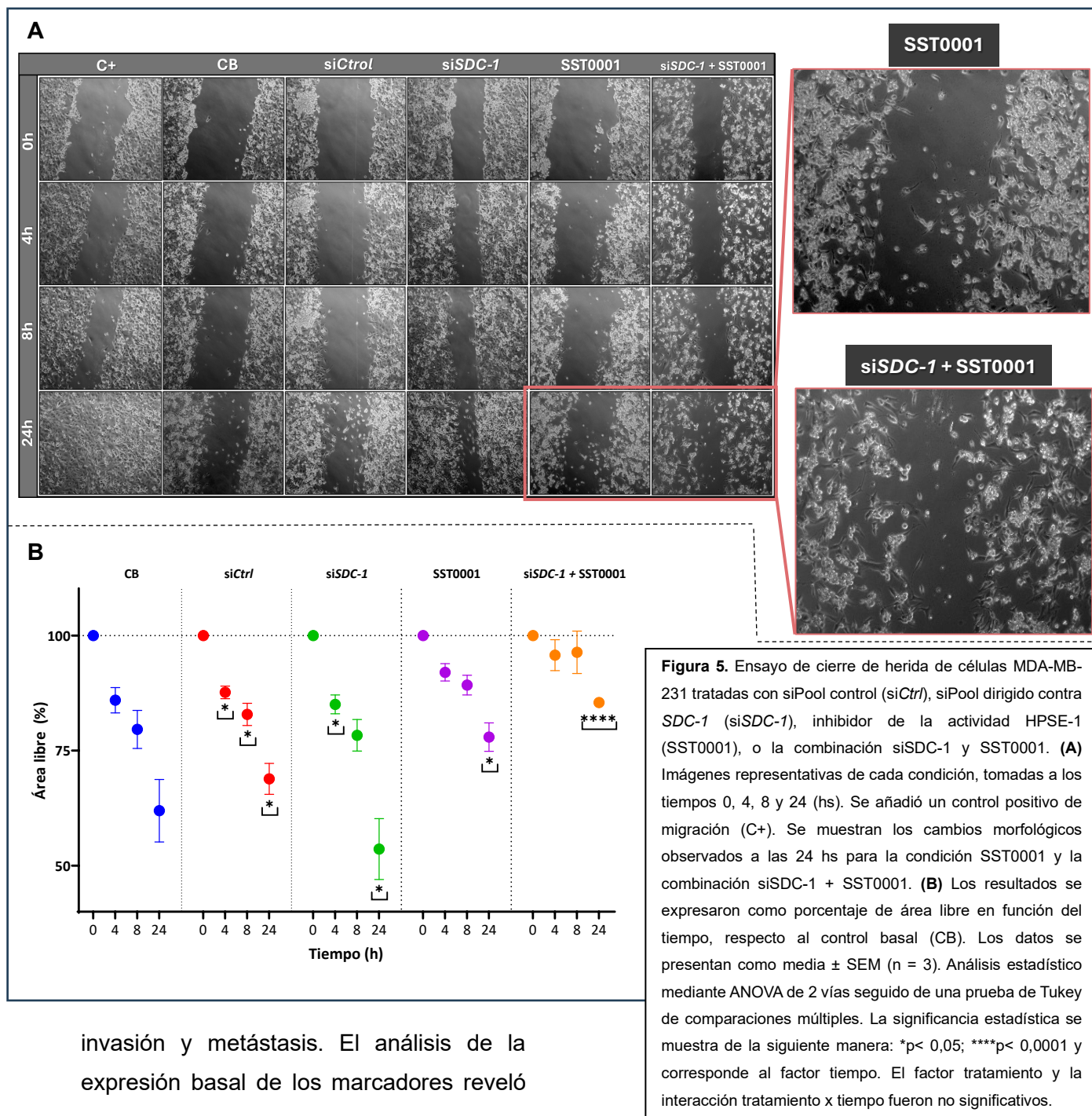
mientras que los tratamientos evaluados no produjeron diferencias significativas en la capacidad de migración de las células MDA-MB-231 (**Fig. 5B**). Por otro lado, se observó un cambio en la forma de crecimiento de las células que implicó la formación de agrupaciones o clusters en lugar de una monocapa. Esto se vio luego del tratamiento con SST0001 o con la combinación siSDC-



1 + SST0001, efecto que no se detectó en las demás condiciones (Fig. 5A).

4.4 Expresión de genes marcadores de agresividad. A través del uso de qPCR evaluamos la expresión de proteínas, enzimas y PGs que participan en cambios morfológicos y fenotípicos implicados en la

que las células MDA-MB-231 expresan *HPSE-1* y *MMP9*, pero no *HPSE-2*. Asimismo, presentan los cuatro tipos de sindecanos (*SDC1-4*), alta expresión de *CD44* y ausencia de *CD24* (marcadores asociados a fenotipo “stem”), junto con una elevada expresión de *ITGβ1* y *VIM*, y una



invasión y metástasis. El análisis de la expresión basal de los marcadores reveló

baja expresión de *CDH1* (moléculas vinculadas a adhesión célula-célula y célula-MEC) y *SDF-1* (quimiocina del receptor CXCR4 expresada durante el proceso de metástasis) (**Fig. 6A**).

Los resultados mostraron que el perfil de expresión de los marcadores evaluados se modificó en respuesta a los distintos tratamientos, siendo los cambios más marcados con la combinación siSDC-1 + SST0001. Específicamente, en esta condición se observó un incremento significativo en la expresión de *CD44* y *CD24* ($p = 0,0122$ y $p = 0,0265$, respectivamente), acompañado de una

disminución tendencial en *CDH1* y *SDF1* (no significativo), así como un leve aumento en *ITGβ1*, *VIM* y *SDC-2* (no significativo) (**Fig. 6B**). En conjunto, estos hallazgos sugieren que la inhibición simultánea de la expresión de SDC-1 y de la actividad de HPSE-1 favorece el mantenimiento de un fenotipo mesenquimal en las células MDA-MB-231.

4.5 Modelo de cocultivo in vitro. Al evaluar la expresión génica de los marcadores de agresividad previamente mencionados tras 5 días de cocultivo indirecto con Mo de sangre periférica, se observó en primer lugar que la expresión de *SDC-1* se

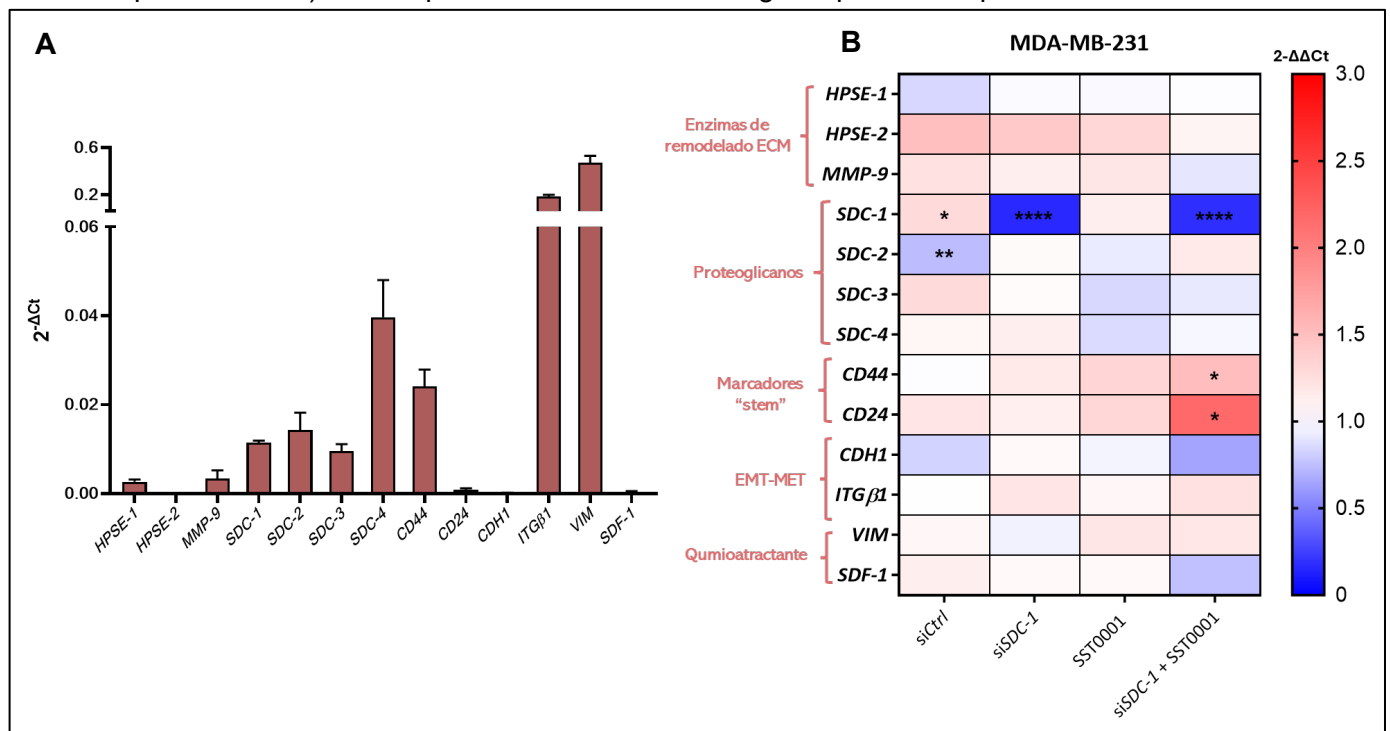


Figura 6. Perfil de expresión génica de células MDA-MB-231 evaluado por qPCR. **(A)** Expresión basal relativa de genes asociados a enzimas de remodelado de matriz extracelular (ECM), proteoglicanos, marcadores asociados a fenotipo "stem", transición epitelial-mesenquimal/mesenquimal-epitelial (EMT-MET) y quimioattractantes, representado como $2^{-\Delta C_t}$. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM ($n = 3$). **(B)** Análisis de la expresión relativa ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) de los mismos genes tras el silenciamiento con siPool control (siCtrl), siPool dirigido contra SDC-1 (siSDC-1), inhibidor de la actividad HPSE-1 (SST0001), o la combinación siSDC-1 y SST0001. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Tukey de comparaciones múltiples. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM ($n = 3$). La escala de color representa los cambios de expresión relativa respecto al control basal (CB) (azul: disminución; rojo: aumento). Se indican los niveles de significancia estadística: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

mantuvo inhibida luego del cocultivo y que las tendencias previamente identificadas se invertían en este contexto. Específicamente, *CD44* y *CD24* mostraron una disminución en su expresión, mientras que *CDH1* y *SDF-1* aumentaron, y *VIM* presentó una disminución. Este patrón se observó tanto para el tratamiento con SST0001 y el combinado siSDC-1 + SST0001, siendo mayor en el primero (Fig. 7). Estos resultados, si bien son preliminares y sujetos a confirmación mediante experimentos adicionales,

destacan la importancia del microambiente tumoral como modulador de la plasticidad de las células tumorales, especialmente tras el tratamiento con SST0001 y con la combinación siSDC-1 + SST0001.

Con el objetivo de evaluar el impacto de la inhibición del eje *HPSE-1/SDC-1* en células MDA-MB-231 sobre componentes celulares del microambiente tumoral de mama, específicamente macrófagos C, analizamos la expresión de genes asociados con su migración, diferenciación, activación y polarización. Los resultados mostraron que

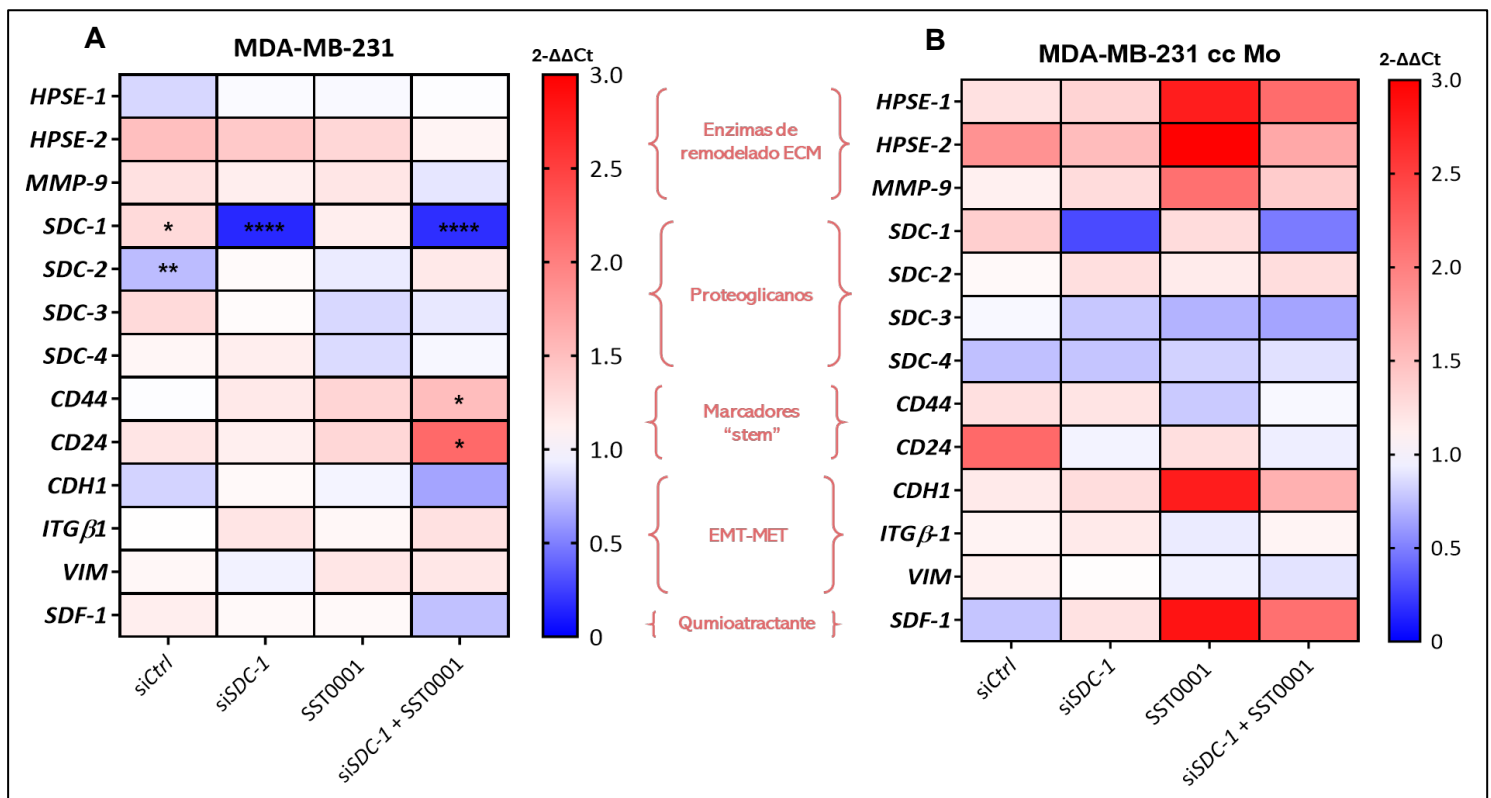


Figura 7. Análisis de la expresión relativa ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) de genes asociados a enzimas de remodelado de matriz extracelular (ECM), proteoglicanos, marcadores de células madre, transición epitelial-mesenquimal/mesenquimal-epitelial (EMT-MET) y quimioattractantes de células MDA-MB-231 tras el silenciamiento con siPool control (siCtrl), siPool dirigido contra *SDC-1* (siSDC-1), inhibidor de la actividad HPSE-1 (SST0001), o la combinación siSDC-1 y SST0001. Se muestran los resultados antes y después de 5 días de cocultivo con Macrófagos derivados de Monocitos de sangre periférica (A y B, respectivamente). ANOVA de una vía seguido de una prueba de Tukey de comparaciones múltiples. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM (n = 3). La escala de color representa los cambios de expresión relativa respecto al control basal (CB) (azul: disminución; rojo: aumento). Se indican los niveles de significancia estadística: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001. Cc Mo: cocultivo con monocitos de sangre periférica. *Nota: los datos presentados en la figura B son preliminares (n = 1).

el secretoma de células MDA-MB-231 tratadas con *siSDC-1*, *SST0001* o la combinación (*siSDC-1* + *SST0001*) modifica el perfil de expresión génica de los MØ en comparación con el control basal (MØ en cocultivo con MDA-MB-231 sin tratamiento). Se observó un incremento en la expresión de *HPSE-1*, *SDC-1/2/3/4*, *GM-CSF* y *CD68*, lo que sugiere aumento de la capacidad migratoria y diferenciación hacia MØ. Asimismo, se observó un aumento en *iNOS* e *IL-1β* junto con una disminución de *Arginasa-1*, consistente con un fenotipo proinflamatorio/antitumoral. Además, se observó una mayor expresión de *IL-10*, posiblemente asociada a la regulación negativa de la respuesta inflamatoria. Finalmente, se registra un incremento en el receptor *TLR2*, y en los mediadores de la vía $\text{NF}\kappa\text{B}$ inflamatoria (**Fig. 8**). Estos resultados, si bien son preliminares y sujetos a confirmación mediante estudios adicionales, sugieren que la inhibición del eje *HPSE-1/SDC-1* en células tumorales de mama MDA-MB-231 podría remodelar el microambiente tumoral, favoreciendo un entorno proinflamatorio y antitumoral a través de la diferenciación de los macrófagos.

4.6 Análisis de asociación de proteínas.

Mediante la herramienta STRING, evaluamos *in silico* la interacción del eje *HPSE-1/SDC-1* con otras proteínas y componentes de señalización intracelular que participan en cáncer. Observamos que

se obtuvo un cluster bien diferenciado que corresponde a enzimas que degradan HS (*HPSE-1/2*) y PGs (*SDC-1/2/3/4*) (**Fig. 9A, delimitado por círculo rojo**). Este clúster se encuentra asociado a un segundo clúster mayor donde encontramos nuestros marcadores evaluados en 3.6, factores de crecimiento (EGF) y angiogénicos (VEGF) y componentes de vías de señalización claves para la supervivencia, proliferación y crecimiento de células tumorales (**Fig. 9A**). El análisis de enriquecimiento de vías KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) mostró que 14 de 22 de los marcadores de la red se encontraron asociados a PGs en Cáncer ($\text{FDR}=1\times 10^{-20}$). Otros procesos en los cuales intervienen estos marcadores incluyeron melanoma, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, y vías de señalización implicadas en adhesión celular, migración y proliferación (*Rap1*) (**Fig. 9B**).

En conjunto, el análisis de STRING respalda la participación del eje *HPSE-1/SDC-1* en redes de señalización críticas para el cáncer, lo que podría también explicar su efecto en cáncer de mama, principalmente a través de la acción de proteoglicanos y de vías que modulan la

adhesión celular, la migración y la progresión tumoral.

5. Discusión

En este trabajo destacamos la importancia del eje HPSE-1/SDC-1 en el comportamiento intrínseco de células tumorales MDA-MB-231 de TNBC, así como también su interacción con células del microambiente, particularmente macrófagos derivados de monocitos. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que analiza el efecto de la inhibición combinada de la expresión de SDC-1 y de la actividad de HPSE-1 como potencial estrategia terapéutica para el TNBC.

El protocolo de transfección resultó efectivo y la inhibición de SDC-1 se mantuvo durante al menos 10 días, asegurada por la

combinación de 30 siRNAs seleccionados específicamente contra este gen. Por otro lado, utilizamos Roneparstat (SST0001), un compuesto con estructura similar a la heparina, para bloquear la actividad de la HPSE-1. Este inhibidor ha sido previamente evaluado en modelos de mieloma múltiple, sarcomas y en un ensayo clínico donde se estudió su eficacia y toxicidad en pacientes (Cassinelli et al., 2016; Ritchie et al., 2011), NCT01764880, clinicaltrials.gov).

En primer lugar, evaluamos características intrínsecas de las células MDA-MB-231, como la viabilidad, capacidad clonogénica y migración luego de los tratamientos. La reducción de la viabilidad y de la capacidad clonogénica tras el silenciamiento de *SDC-1* refuerza el rol esencial de este PG en la

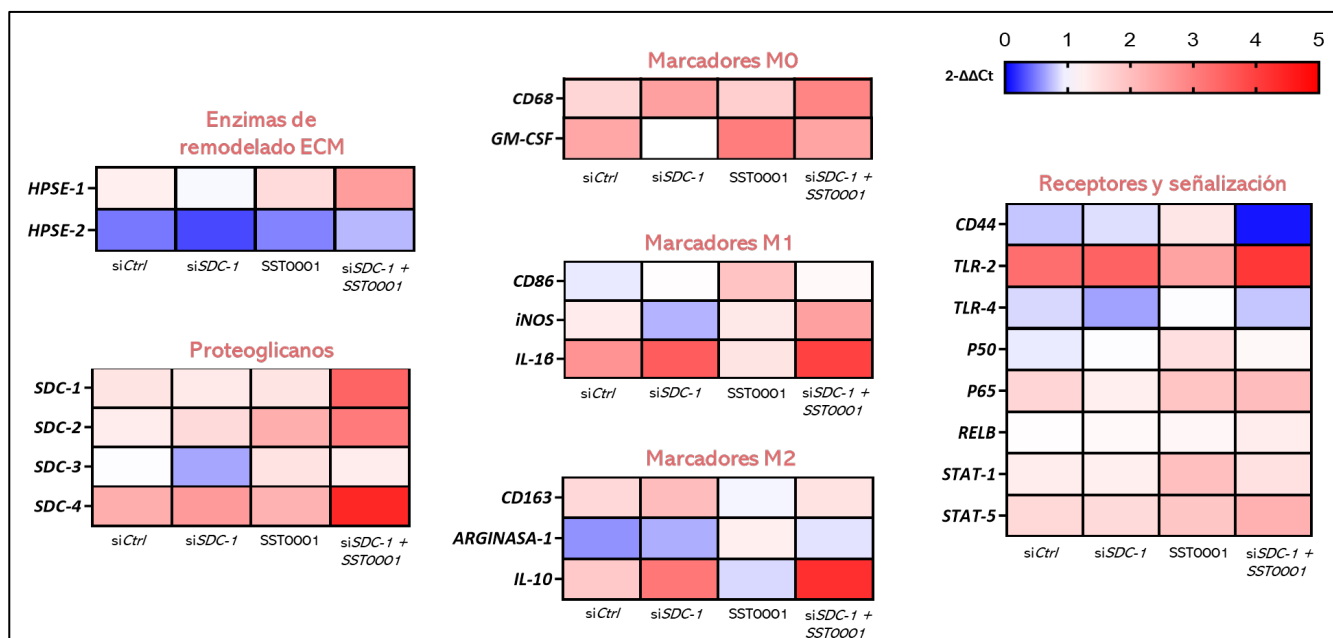


Figura 8. Análisis de la expresión relativa ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) de genes asociados a enzimas de remodelado de matriz extracelular (ECM), proteoglicanos, marcadores de diferenciación de macrófagos (M0, M1 y M2), así como receptores y componentes de vías de señalización de Macrófagos derivados de Monocitos de sangre periférica, tras 5 días de cocultivo con células MDA-MB-231 previamente tratadas con siPool control (siCtrl), siPool dirigido contra *SDC-1* (siSDC-1), inhibidor de la actividad HPSE-1 (SST0001), o la combinación siSDC-1 y SST0001. La escala de color representa los cambios de expresión relativa respecto al control basal (CB) (azul: disminución; rojo: aumento).

*Nota: los datos presentados son preliminares ($n = 1$).

proliferación y supervivencia celular. Sin embargo, la recuperación parcial de estas características cuando se combina el silenciamiento de *SDC-1* con la inhibición de *HPSE-1*, sugiere la activación de mecanismos compensatorios, probablemente mediados por otros miembros de la familia de SDC, como *SDC-2*, cuya expresión se incrementó en nuestras condiciones experimentales. Por otro lado, observamos que los diferentes tratamientos no modificaron la capacidad migratoria de las células, sino que el factor tiempo fue el determinante de esta característica. Asimismo, el tratamiento con

SST0001

o la combinación *siSDC-1* + SST0001 afectaron a la morfología de las células. Dado que estos resultados indicaban una posible remodelación de la MEC y moléculas de adhesión célula-célula, célula-MEC, evaluamos el efecto de los tratamientos sobre la expresión de marcadores implicados en estas interacciones, sobre todo aquellos relacionados a la transición epitelial-mesenquimal/mesenquimal epitelial (EMT-MET) y fenotipo “stem”. En concordancia con esto, observamos cambios en la expresión de genes asociados a EMT y a un fenotipo “stem” que no solo confirman que la inhibición del eje *HPSE-1/SDC-1* no

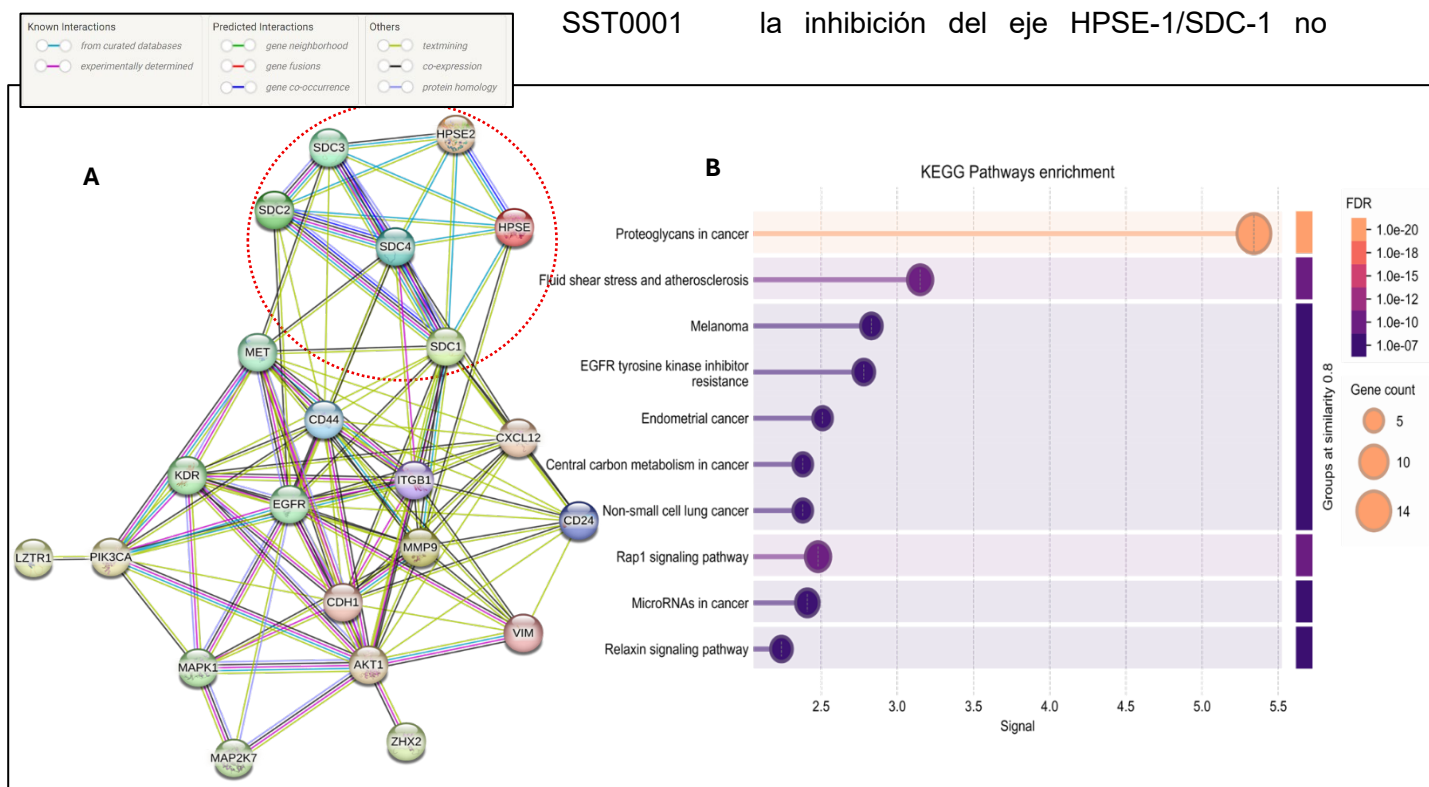


Figura 9. Análisis de interacción de proteínas y enriquecimiento de vías de señalización. A) Red de interacción de proteínas generada a partir de STRING, mostrando interacciones conocidas (líneas sólidas) y predichas (líneas discontinuas) entre moléculas implicadas en remodelado de matriz extracelular y señalización celular. El círculo punteado resalta el subgrupo de proteoglicanos (*SDC1-4*) y *HPSE/HPSE2*, que muestran interacciones intensas entre sí. B) Enriquecimiento de vías de señalización KEGG asociado a los genes de la red. Los valores de señal (Signal) representan la significancia del enriquecimiento, mientras que el tamaño de los círculos indica el número de genes involucrados. La escala de colores refleja el FDR ajustado para cada vía.

necesariamente revierte la agresividad tumoral, sino que puede favorecer la persistencia de un estado mesenquimal, caracterizado por altos niveles de *CD44*, *ITGB1* y *VIM*, junto con la disminución de *CDH1*. Estudios previos en mieloma múltiple han demostrado un aumento en la expresión de marcadores mesenquimales, como *VIM*, junto con una disminución de marcadores epiteliales, como *CDH1*, proceso mediado principalmente por HPSE-1 a través de la activación de la vía ERK (Cassinelli et al., 2016). Por otra parte, en modelos de sarcoma, la administración de SST0001 redujo el crecimiento tumoral *in vivo* e inhibió vías de señalización críticas asociadas con proliferación, supervivencia y migración celular, incluyendo MAPK/ERK y PI3K/AKT (Li et al., 2016). Si bien nuestros resultados difieren de los previamente reportados, es importante considerar que la inhibición de un mecanismo podría potenciar la activación de mecanismos compensatorios. En nuestro modelo experimental, esa compensación podría estar dada por el aumento observado de la expresión de *SDC-2*, el cual activa vías de señalización como MAPK, PI3K y ERK que promueven proliferación, migración, invasión y mantenimiento del fenotipo mesenquimal (Hua et al., 2020). Por lado, no solo encontramos un aumento de la expresión de *CD44* sino también de *CD24*. Estos dos marcadores de superficie son representativos de fenotipos tipo células

madre tumorales, agresivas y mesenquimales. En cáncer de mama, principalmente en TNBC, el perfil fenotípico corresponde a células *CD44^{high}/CD24⁻* o *CD24^{low}*. En MDA-MB-231, se ha demostrado que son las poblaciones *CD44^{high}/CD24^{low}* las que tiene alta capacidad clonogénica y de formación de esferoides (Azzam et al., 2013). En nuestro modelo experimental, el aumento de ambos marcadores, *CD44* y *CD24* podría indicar un cambio en la composición de la población con dichas características que podría explicar los resultados obtenidos. No obstante, esta hipótesis debería ser verificada mediante análisis por citometría de flujo, objetivo que será abordado en futuras investigaciones.

En contraposición a lo explicado anteriormente, al evaluar la interacción con macrófagos derivados de monocitos de sangre periférica, nuestros resultados revelaron un cambio en el perfil de las células tumorales tras el cocultivo. La disminución de la expresión de marcadores tipo “stem” y de EMT, junto con el aumento de *SDF-1*, sugiere que el microambiente inmune es capaz de modificar la plasticidad adquirida por las células tumorales luego del tratamiento combinado. Asimismo, los primeros resultados obtenidos sobre el perfil de los monocitos/macrófagos arrojaron que los macrófagos cocultivados con células TNBC tratadas, principalmente con la combinación, adquirirían un perfil

más cercano al fenotipo M1, con incremento de iNOS e IL-1 β y reducción de Arginasa-1, resultados que aún requieren de confirmación estadística. En este punto, estudios previos que han demostrado que existe una correlación entre la expresión de HPSE-1 y el infiltrado de macrófagos M2 (protumorales), al evaluar marcadores específicos de este perfil tales como CD163, VSIG4 y IL-10 *in silico* y en modelos *in vivo* de cáncer de mama utilizando MDA-MB-231 que sobreexpresan HPSE-1 (Wen-Jing et al., 2021).

Finalmente, el análisis *in silico* mediante STRING apoyó la idea de que el eje HPSE-1/SDC-1, junto con HPSE-2 y otros PGs, forman parte de redes centrales de señalización celular que incluyen vías de PI3K/AKT/mTOR y MAPK, fundamentales para la supervivencia y migración celular. La fuerte asociación encontrada con PGs en cáncer y con procesos como adhesión celular y angiogénesis refuerza el rol del eje HPSE-1/SDC-1 como modulador clave de plasticidad tumoral y comunicación con el microambiente, y como un blanco de estudio en profundidad para futuras investigaciones.

6. Conclusión

La inhibición del eje HPSE-1/SDC-1 en células de cáncer de mama triple negativo modificó su perfil de expresión génica y su plasticidad, induciendo vías compensatorias que mantienen las características mesenquimales de la línea

celular. No obstante, en combinación con células del microambiente, específicamente Macrófagos, se revertirían estas características. Asimismo, estas células inmunes podrían estar polarizándose a un fenotipo M1. En conjunto, los resultados sugieren que la modulación de este eje podría reprogramar el microambiente del cáncer de mama hacia condiciones menos favorables para la progresión tumoral. No obstante, más estudios son necesarios para corroborar estos resultados.

7. Financiamiento

- Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT) - PICT-2021-I-A-01060.
- Proyecto HEPINIB: “Heparanase inhibition as a multifunctional targeting approach in cancer” - HORIZON-MSCA-2021-SE-01 (MSCA Staff Exchanges 2021).
- Subsidios de Investigación Bianuales (SIB) 2647/2025, de la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA).

8. Bibliografía

Azzam, D. J., Zhao, D., Sun, J., Minn, A. J., Ranganathan, P., Drews-Elger, K., Han, X., Picon-Ruiz, M., Gilbert, C. A., Wander, S. A., Capobianco, A. J., El-Ashry, D., & Slingerland, J. M. (2013). Triple negative breast cancer initiating cell subsets differ in functional and molecular characteristics and in γ -secretase inhibitor drug responses. *EMBO Molecular Medicine*, 5(10), 1502–

1522.
<https://doi.org/10.1002/emmm.201302>
558
- Cassinelli, G., Favini, E., Dal Bo, L., Tortoreto, M., De Maglie, M., Dagrada, G., Pilotti, S., Zunino, F., Zaffaroni, N., & Lanzi, C. (2016). *oncotarget-v7i30-10292. Oncotarget*, 47848–47863. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10292>
- Hua, R., Yu, J., Yan, X., Ni, Q., Zhi, X., Li, X., Jiang, B., & Zhu, J. (2020). Syndecan-2 in colorectal cancer plays oncogenic role via epithelial-mesenchymal transition and MAPK pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109630>
- Lebsir, N., Zoulim, F., & Grigorov, B. (2023). Heparanase-1: From Cancer Biology to a Future Antiviral Target. In *Viruses* (Vol. 15, Issue 1). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/v15010237>
- Li, J., Pan, Q., Rowan, P. D., Trotter, T. N., Peker, D., Regal, K. M., Javed, A., Suva, L. J., & Yang, Y. (2016). Heparanase promotes myeloma progression by inducing mesenchymal features and motility of myeloma cells. In *Oncotarget* (Vol. 7, Issue 10). www.impactjournals.com/oncotarget/
- Nassar, E., Hassan, N., El-Ghonaimy, E. A., Hassan, H., Abdullah, M. S., Rottke, T. V., Kiesel, L., Greve, B., Ibrahim, S. A., & Götte, M. (2021). Syndecan-1 promotes angiogenesis in triple-negative breast cancer through the prognostically relevant tissue factor pathway and additional angiogenic routes. *Cancers*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/cancers13102318>
- Parnigoni, A., Moretto, P., Viola, M., Karousou, E., Passi, A., & Vigetti, D. (2023). Effects of Hyaluronan on Breast Cancer Aggressiveness. In *Cancers* (Vol. 15, Issue 15). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/cancers151513813>
- Ramani, V. C., Purushothaman, A., Stewart, M. D., Thompson, C. A., Vlodavsky, I., Au, J. L. S., & Sanderson, R. D. (2013). The heparanase/syndecan-1 axis in cancer: Mechanisms and therapies. In *FEBS Journal* (Vol. 280, Issue 10, pp. 2294–2306). <https://doi.org/10.1111/febs.12168>
- Rangarajan, S., Richter, J. R., Richter, R. P., Bandari, S. K., Tripathi, K., Vlodavsky, I., & Sanderson, R. D. (2020). Heparanase-enhanced Shedding of Syndecan-1 and Its Role in Driving Disease Pathogenesis and Progression. In *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* (Vol. 68, Issue 12, pp. 823–840). SAGE

- Publications Ltd.
<https://doi.org/10.1369/0022155420937087>
- Ritchie, J. P., Ramani, V. C., Ren, Y., Naggi, A., Torri, G., Casu, B., Penco, S., Pisano, C., Carminati, P., Tortoreto, M., Zunino, F., Vlodavsky, I., Sanderson, R. D., & Yang, Y. (2011). SST0001, a chemically modified heparin, inhibits myeloma growth and angiogenesis via disruption of the heparanase/syndecan-1 axis. *Clinical Cancer Research*, 17(6), 1382–1393. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2476>
- Szatmári, T., Ötvös, R., Hjerpe, A., & Dobra, K. (2015). Syndecan-1 in Cancer: Implications for Cell Signaling, Differentiation, and Prognostication. In *Disease Markers* (Vol. 2015). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2015/796052>
- van den Ende, N. S., Nguyen, A. H., Jager, A., Kok, M., Debets, R., & van Deurzen, C. H. M. (2023). Triple-Negative Breast Cancer and Predictive Markers of Response to Neoadjuvant Chemotherapy: A Systematic Review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24032969>
- Vlodavsky, I., Gross-Cohen, M., Weissmann, M., Ilan, N., & Sanderson, R. D. (2018). Opposing Functions of Heparanase-1 and Heparanase-2 in Cancer Progression. In *Trends in Biochemical Sciences* (Vol. 43, Issue 1, pp. 18–31). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2017.10.007>
- Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. In *JAMA - Journal of the American Medical Association* (Vol. 321, Issue 3, pp. 288–300). American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323>
- Wen-Jing, Y., Lin, S., Xiao-Min, W., & Guo-Wang, Y. (2021). HPSE and immune cells in breast cancer. *Aging (Albany NY)*, 20836–20852. <https://doi.org/10.18632/aging.203489>
- Wu, T., & Dai, Y. (2016). Tumor microenvironment and therapeutic response. *Cancer Letters*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.01.043>
- Yuan, F., Yang, Y., Zhou, H., Quan, J., Liu, C., Wang, Y., Zhang, Y., & Yu, X. (2022). Heparanase in cancer progression: Structure, substrate recognition and therapeutic potential. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.926353>

39. Salud humana.

**Efectos del STZ-icv sobre la morfología glial y la neurodegeneración hipocampal
en ratas macho: análisis a corto y mediano plazo**

Autor: Vidal Escobedo, Ana Abril; avidalescobedo@med.unlp.edu.ar

Co-autor(es): Peralta, Facundo, facundoperalta@med.unlp.edu.ar

Orientador/a: Reggiani, Paula Cecilia

Universidad de La Plata, Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata

“Profesor Doctor Rodolfo R. Brenner”.

Resumen

La enfermedad de Alzheimer esporádica (EAE) es la forma más común de demencia neurodegenerativa, caracterizada por pérdida progresiva de la memoria, deterioro cognitivo y alteraciones del comportamiento. A pesar de su alta prevalencia, actualmente no existen terapias efectivas que detengan o reviertan su evolución. Para el estudio de esta patología, se ha desarrollado un modelo no transgénico en ratas basado en la administración intracerebroventricular (icv) de estreptozotocina (STZ), que reproduce características clave de la EAE, como resistencia central a la insulina, deterioro de la memoria, estrés oxidativo y cambios neuropatológicos típicos.

Con el objetivo de caracterizar los efectos de la STZ-icv a corto y mediano plazo, se utilizaron datos previamente publicados por nuestro grupo (Zappa Villar MF L. H., 2018) (Zappa Villar MF L. H., 2020)). Para el modelo a corto plazo, se evaluaron ratas macho previo a la eutanasia, 25 días después de la administración de STZ, tras pruebas cognitivas como el laberinto Barnes (LB) y el test de reconocimiento de objetos (RO). Para el modelo a mediano plazo, se analizaron los mismos tests, previo a la eutanasia, 95 días después de la administración de STZ

Además, se evaluaron alteraciones estructurales y celulares en el hipocampo dorsal, observándose daño progresivo y cambios gliales asociados, lo que respalda el uso del modelo STZ-icv para estudiar la fisiopatología de la EAE y posibles biomarcadores gliales tempranos.

Palabras clave: Estreptozotocina, Memoria, Hipocampo, Células gliales, Alzheimer.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer esporádica (EAE) es la patología neurodegenerativa más frecuente (LaFerla, 2007), con una alta prevalencia y morbilidad, y actualmente no existen terapias efectivas que reviertan su progresión. Esta situación ha generado un problema creciente con un importante impacto social, médico y económico.

La EAE se acompaña de un deterioro progresivo de la memoria, alteraciones cognitivas y cambios en la personalidad. Se caracteriza por la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares intraneuronales, degeneración neuronal y alteraciones en el metabolismo energético cerebral (Schubert, 2004). La combinación de un diagnóstico temprano y una terapia efectiva es esencial para frenar el aumento continuo en la prevalencia de la enfermedad debido a la mayor esperanza de vida.

Como aporte para abordar este problema, se están estudiando numerosos modelos animales *in vitro* e *in vivo*. Un modelo propuesto en roedores para la EAE es la administración intracerebroventricular (icv) de un fármaco diabetogénico, la estreptozotocina (STZ) (Salkovic-Petrisic, 2007) (Salkovic-Petrisic M. e., 2009). Este modelo no transgénico reproduce las lesiones características de la EAE (Selkoe, 2001); de hecho, la

administración icv de STZ (STZ-icv) genera un estado de resistencia a la insulina, selectivamente en el cerebro pero no en la periferia (Salkovic-Petrisic M. &, 2007) (Salkovic-Petrisic M. e., 2009), junto con alteraciones en el metabolismo de la glucosa cerebral (Duelli, 1994) (Heo, 2011), estrés oxidativo (Nunomura, 2006), aumento de la amiloidogénesis, hiperfosforilación de tau (Grünblatt, 2007), degeneración de neuronas colinérgicas (Blokland, 1993) y alteraciones en la memoria (De la Monte, 2006) (Rostami, 2017) (Shoham, 2003).

Se emplean distintos tipos de pruebas con laberintos para detectar déficits cognitivos en el modelo de rata STZ-icv para EAE (Knezovic, 2015). El aprendizaje espacial y la memoria de referencia se evalúan frecuentemente mediante el test del laberinto acuático de Morris (MWM) (Deshmukh, 2016). En 1979, Carol Barnes desarrolló este laberinto seco para analizar tareas cognitivas dependientes del hipocampo en ratas senescente (Barnes, 1979). Nuestro grupo validó previamente una variante del protocolo BM (Morel, 2015) para estudiar el envejecimiento cognitivo. En este estudio, se evaluaron los efectos de la administración de STZ-icv en ratas macho, mediante pruebas cognitivas realizadas a los 25 y 95 días post inyección, como modelos de daño cognitivo a corto y mediano plazo, respectivamente, con el

objetivo de analizar el aprendizaje espacial y la memoria de referencia. Además, para ampliar nuestra evaluación cognitiva, se evaluó la memoria de reconocimiento mediante una tarea también dependiente del hipocampo: la prueba de reconocimiento de objetos novedosos (RO) (Hashemi-Firouzi, 2017).

Existe evidencia de los efectos degenerativos de la enfermedad de Alzheimer en los diferentes subcampos del hipocampo y su correlación con la función cognitiva global y el rendimiento de la memoria (Su, 2018). Una de las regiones más vulnerables en pacientes con EA es el estrato radiado (SR) (West, 1994), que está involucrado en las vías entre CA1 y CA3/corteza entorrinal, y entre el hipocampo y otras áreas corticales. En consecuencia, el SR y la capa piramidal de CA1 son consideradas regiones candidatas como biomarcadores de la EA (Su, 2018) (West, 1994). Sin embargo, otras regiones del hipocampo también pueden presentar signos de daño en la EA. Entre estas regiones se encuentra el giro dentado (DG), donde las células granulares y los astrocitos muestran cambios morfológicos (Llorens-Martín, 2014) y CA3, que presenta pérdida de densidad neuronal (Padurariu, 2012).

Además, existe una necesidad crítica de estudiar la asociación entre estados funcionales específicos de las células gliales y la progresión de la EA. Por otro lado, hay evidencia de que las variaciones

en el entorno extracelular glial provocan modificaciones en la morfología glial que están estrechamente relacionadas con su función. No obstante, los cambios astrogliarles durante la progresión de la EAE han sido poco explorados debido a la ausencia durante muchos años de un modelo animal adecuado para esta enfermedad. El modelo de rata STZ-icv podría contribuir a cubrir estas necesidades.

En el presente estudio, se analizó el volumen del estrato radiado y los cambios morfológicos en las neuronas, la microglía positiva para la molécula adaptadora de unión al calcio ionizado 1 (Iba1), y los astrocitos positivos para la proteína glial fibrilar ácida (GFAP) en el hipocampo dorsal después de la exposición a STZ-icv.

Objetivos

Caracterizar el modelo de EAe generado mediante inyección de STZ-icv en ratas macho, a los 25 y 95 días post inyección de STZ (modelo de corto y mediano plazo, respectivamente).

Objetivos Específicos

1. Evaluar el rendimiento cognitivo en ratas STZ-icv mediante:
 - a. La prueba del laberinto de Barnes para medir aprendizaje espacial y memoria de referencia.
 - b. La prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NOR) para evaluar memoria de reconocimiento.

2. Cuantificar la expresión y acumulación de beta-amiloide en el hipocampo dorsal como marcador neuropatológico característico de la EAE.
3. Analizar la activación y morfología de la microglía mediante inmunomarcación para Iba1, determinando su grado de reactividad.
4. Evaluar la activación y cambios morfológicos de los astrocitos mediante marcaje con GFAP, aplicando análisis morfométrico de Sholl para cuantificar la complejidad ramificada de sus procesos.
5. Medir el volumen del Estrato Radiatum (SR) del hipocampo dorsal para detectar alteraciones estructurales asociadas con la neurodegeneración inducida por STZ-icv.

Materiales y Métodos

Animales: Los experimentos se realizaron en ratas macho *Sprague Dawley* de 3 meses de edad. Los animales se alojaron en jaulas a temperatura controlada (22-24 °C) con un ciclo de 12 h de luz/12 h de oscuridad (luces encendidas de 7 a.m. a 7 p.m.) disponiendo comida y agua ad libitum. Previo a la realización de los experimentos, los mismos fueron revisados y aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Médicas, UNLP (#

T10-01-2013; #P03-03-2016).

Preparación de estroptozotocina

El día de la inyección icv se preparó una solución de STZ (Sigma-Aldrich, CAS 18883-66-4), disolviendo la droga en LCR artificial (LCRa) estéril (120 mM NaCl, 3 mM KCl, 1,15 mM CaCl₂, 0,8 mM MgCl₂, 27 mM NaHCO₃ y 0,33 mM NaH₂PO₄, pH 7,4). Las ratas del grupo experimental STZ recibieron una inyección bilateral icv de STZ en dosis 3mg/kg de peso corporal, mientras que las ratas del grupo control (Sham) recibieron 5 ul/ventrículo de LCRa.

Diseño experimental

Para caracterizar el efecto de la STZ-icv en ratas macho a corto y largo plazo, después de 25 y 95 días de su administración, respectivamente, se utilizaron los datos generados por nuestro grupo y publicados en Zappa Villar et al., 2018, 2020.

Para el experimento de STZ-icv a corto plazo, una semana antes de la inyección de STZ, se implantó icv una cánula en todos los animales. Luego, en el día experimental (DEx) 0, los animales fueron divididos aleatoriamente formando los grupos Sham y STZ. Se inyectó LCRa o STZ (3mg/kg), respectivamente. Dos semanas post inyección de STZ, se realizaron las pruebas de memoria (LB y test RO). El último día (DEx 25) se procedió a la eutanasia de todas las ratas mediante rápida decapitación (**Fig. 1A**).

Para el experimento de STZ-icv a mediano plazo, en el DEx 0, los animales se dividieron aleatoriamente en tres grupos de siete animales cada uno. Para este estudio se analizaron los datos de los grupos Sham y STZ, los cuales fueron inyectados con LCRa o STZ, respectivamente. Luego de 86 días post inyección de STZ, se dio inicio a pruebas de comportamiento, entre ellas el LB y el test RO. Los resultados del resto de las pruebas Marble Buried y Campo Abierto, no fueron seleccionados para este objetivo (y no se incluyen en la figura), a efectos de realizar una comparación con los grupos del experimento a corto plazo. Finalmente, se realizó la eutanasia de los animales en el DEx 95 por decapitación rápida (**Fig 1B**).

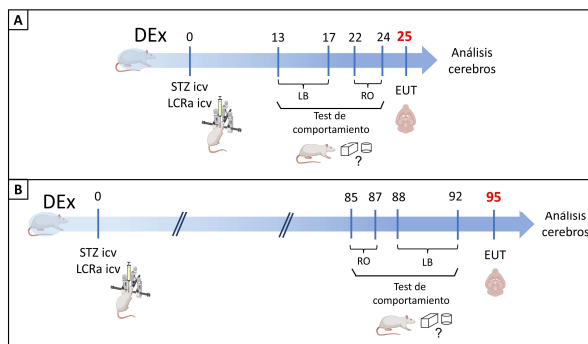


Figura 1: Diseño experimental de los experimentos a corto y a largo plazo con STZ-icv. En el DEx 0, se inyectó STZ o LCRa (icv). En el DEx 13 se realizó el test de LB (protocolo de 5 días), y del DEx 22 al 24 se llevó a cabo el RO (protocolo de 3 días); finalmente las ratas se sacrificaron en el DEx 25 (**A**). En el DEx 0, se inyectó STZ o LCRa (icv). En el DEx 85 se inició con el test RO (protocolo de 3 días) y desde el DEx 88 al 92 se realizó el test de LB (protocolo de 5 días); finalmente las ratas se sacrificaron en el DEx 95 (**B**).

Cirugía estereotáxica: Las ratas fueron anestesiadas con clorhidrato de ketamina (40 mg / kg; i.p) más xilacina (8 mg/kg; i.p) y colocadas en un aparato estereotáxico. Mediante el uso de una jeringa Hamilton de 10 µl colocada en el brazo del dispositivo estereotáxico los animales fueron inyectados icv.

La inyección se realizó en las siguientes coordenadas: AP: -0.9 L: +/- 1.5. DV: -5, relativas al bregma. Para corroborar el funcionamiento de la STZ, se observó la baja notoria en el peso de los animales los días inmediatos después de la inyección.

La STZ fue preparada poco tiempo antes de utilizarse, para protegerla de la degradación debida a su baja estabilidad.

Test comportamentales

Test de reconocimiento de objeto nuevo:

El test de reconocimiento de objeto nuevo (RO) permite evaluar la memoria de reconocimiento y se basa en la preferencia que muestran los animales por el objeto nuevo(N) versus el familiar (F). Para ello se utilizó una caja cuadrada de 65 x 65 x 45 cm, cuyo piso estaba dividido en 16 cuadrados de igual tamaño, en la cual se colocaron dos objetos idénticos y se dio lugar a que los animales lo exploren durante cinco minutos. Al cabo de un cierto tiempo, se repite la prueba cambiando uno de los objetos ya conocidos, por un objeto diferente para analizar el grado de reconocimiento y la memoria del animal en estudio. Entonces,

un día después de la habituación (5 min), se realizó un primer ensayo de exploración (RO1) enfrentando al animal a dos objetos idénticos dentro de la caja, durante 5 min. Pasadas 24 hs del primer ensayo, se realizó una segunda prueba de exploración (RO2) de 5 min de duración, cambiando uno de los objetos familiares por uno nuevo del mismo material y similares dimensiones, pero distinta forma. Luego de cada prueba, los objetos y la caja fueron cuidadosamente limpiadas con etanol al 10% para eliminar señales olfatorias. Las performances de comportamiento fueron grabadas usando una cámara localizada sobre el campo conectada a una computadora (Zappa Villar MF L. H., 2018). Con el tiempo de exploración de cada objeto, se calculó el porcentaje de exploración del objeto F y del objeto N.

Laberinto de Barnes: El laberinto de Barnes (LB) se usa para evaluar el aprendizaje y la memoria espacial de los animales (Zappa Villar MF L. H., 2018). Para esto, se busca establecer una relación entre señales distales en el entorno circundante con una ubicación de escape fija ubicada en el campo de estudio. El test consiste en una plataforma acrílica circular de 122 cm de diámetro, conteniendo 20 agujeros uniformemente distribuidos en su periferia. El agujero meta (conectado a una caja de escape) es numerado como el agujero 0, mientras que el resto de los agujeros son numerados del

1 al 10 en sentido horario, y del -1 al -9 en sentido anti horario. Dicha plataforma se posiciona en un cuarto donde se colocan 4 señales visuales a una misma distancia del centro de la plataforma. A lo largo del experimento, el agujero meta se mantiene fijo en una misma posición y el animal puede utilizar estas cuatro señales para aprender la ubicación y dirigirse hacia la caja de escape en un menor tiempo. Los factores que motivan el escape del animal en nuestro experimento son una luz blanca de 500W y un ruido blanco de 90 dB. El desarrollo experimental puesto a punto en el laboratorio consta de un período de habituación en el cual se le permite a cada animal conocer la plataforma de trabajo, en ausencia de estímulos de escape. Posteriormente, se realizan durante tres días consecutivos, dos ensayos de adquisición (ATs) de memoria diarios (6 ATs totales) en los que el animal explora la plataforma, con un tiempo máximo de 2 min, hasta hallar la caja de escape, momento en el que los estímulos aversivos son apagados. Finalmente, en el cuarto día se realiza la Prueba de Memoria (PT), similar a los ATs pero sin la caja de escape, para evaluar la retención de la memoria. Al igual que en los test descritos con anterioridad, luego de cada ensayo se procede a la limpieza del campo de trabajo con alcohol al 10% y se graba el tiempo total de cada prueba con una cámara localizada sobre la plataforma. En cuanto al análisis, los parámetros de comportamiento evaluados

fueron; Latencia: tiempo empleado por un animal desde su liberación de la cámara de inicio hasta la primera exploración del agujero de escape; Errores: Número de exploraciones de agujeros diferentes al agujero de escape, hasta la primera exploración de dicho agujero; Frecuencia de exploración en el sector meta (GS, del inglés Goal Sector): número de exploraciones de los agujeros -1, 0 y 1, dividido por el número de exploraciones de todos los agujeros; Porcentaje de exploración del agujero 0 sobre el total de exploraciones.

Eutanasia y obtención de cerebros: La eutanasia de las ratas se llevó a cabo mediante decapitación rápida, previa anestesia de los animales con xilacina y ketamina, al igual que para las cirugías estereotáxicas. Los cerebros se extrajeron rápidamente y se dividieron ambos hemisferios. El hemisferio izquierdo se fijó en paraformaldehído (PFA) al 4% preparado en buffer fosfato (PB) 0,1M (pH 7,4), durante una noche a 4°C. Luego de 24 h, los cerebros se conservaron en una solución crioprotectora de 30% de etilenglicol y 30% de sacarosa, en PB 0,1 M (pH 7,4) a -20°C, hasta su uso para inmunohistoquímica (IHQ). Para ello, el hemisferio izquierdo se cortó coronalmente en secciones de 40 µm de grosor con un vibrátomo (VT1000S; Leica Microsystems), separando los cortes en seis series. En estas series el hipocampo dorsal se encontraba representado entre 5

y 7 cortes; cada serie fue utilizada para distintos experimentos de IHQ. En el hemisferio derecho, el hipocampo y la corteza fueron disecados y almacenados a -80 °C para su posterior uso en Western Blot (WB).

Estadística: Se utilizó el test t de Student para comparar las medias de los grupos Sham y STZ en los distintos parámetros comportamentales y en la expresión de las proteínas evaluadas mediante WB. Para los resultados del test RO, se realizó un t-test pareado ya que se comparó la exploración de los objetos familiar y novedosos para el mismo grupo. Se realizó ANOVA de dos factores con el fin de examinar el efecto de la STZ y del tiempo post STZ, sobre el IRA de GFAP, la longitud de los procesos y el número de procesos primarios de los astrocitos, el recuento de células GFAP e Iba1-ir, el porcentaje de células Iba1 reactivas, y el volumen del SR de CA1. El análisis de Sholl de los astrocitos fue analizado mediante un ANOVA de tres factores con medidas repetidas para evaluar el efecto de la STZ, del tiempo post STZ y de la distancia al soma sobre el número de intersecciones de los procesos, una medida de arborización celular.

Inmunohistoquímica

Para cada experimento de IHQ, se seleccionaron los cortes de interés de una de las seis secciones seriadas. Los cortes coronales fueron lavados en solución de

lavado (albúmina de suero bovino [BSA] al 10%, Triton X-100 al 0,4%, PB 0,1 M) para eliminar excedentes de la solución criopreservadora. Luego, se realizó un paso de bloqueo de la enzima peroxidasa endógena (50% metanol, 10% H₂O₂ 30 vol, 15 min a temperatura ambiente) y un bloqueo general del tejido para evitar uniones inespecíficas con los anticuerpos (10% suero normal de caballo, 1% BSA, 1 h a temperatura ambiente). Tras una incubación de una noche a 4°C con el anticuerpo primario (Iba1-conejo-Wako Chemicals #016- 20001-1:1000; GFAP-conejo-DAKO-Z0334 -1:1500) las secciones se incubaron con el anticuerpo secundario correspondiente, conjugado a biotina, durante 120 min. Posteriormente, se enjuagaron e incubaron con el complejo avidina-biotina-peroxidasa (1:500; Vector Laboratories, Cat#PK-6100) durante 90 min, o con streptavidina-HRP (1:2000; Abcam, ab740) durante 15 min. Finalmente, las secciones se incubaron durante 5 min con 3,3-diamino benzidinetetrahidrocloruro (Nacalai Tesque Inc, Lot. M4M3918, #110-09) o VIP (Vector Laboratories, Cat#SK-4600) y la reacción fue cortada con el agregado de agua corriente. Las secciones se montaron y se contra tiñeron con Nissl (solución de violeta de cresilo al 0,5 %) mediante una inmersión de los portaobjetos durante 15 s. A continuación, los cortes fueron deshidratados en alcoholes (etanol y xilol) y montados con Bálsamo de Canada (Biopack, Cod.

1302.06) para su visualización en el microscopio.

Obtención y análisis de imágenes: Las imágenes se obtuvieron de secciones seriadas a lo largo del eje antero-posterior del hipocampo dorsal, ubicado entre las coordenadas -2,92 mm y -4,68 mm desde el bregma (Paxinos, 2007). La obtención de imágenes de IHQ se realizó con un microscopio Olympus BX-51 acoplado a una cámara de vídeo Olympus DP70 (Tokio, Japón).

El análisis de imagen se llevó a cabo usando el software Image ProPlus v5.1 (IPP, Media Cybernetics) y el software ImageJ (NIH).

Análisis de células microgliales

Las células microgliales se identificaron como células inmunorreactivas (ir) Iba1 (Iba1-ir). Para ello, se cuantificaron tres campos del GD y del SR de CA1 correspondientes por sección. Se utilizó una grilla cuadrada de 22500 µm² de área superpuesta sobre imágenes calibradas tomadas con un objetivo de inmersión (60x), y se contaron las células dentro del área de la grilla. Se tomaron como límites de inclusión las líneas inferior y derecha, y como límite exterior las líneas superior e izquierda. El recuento total de células se normalizó por el número de secciones analizadas. Adicionalmente, se obtuvo el porcentaje de células Iba1 positivas reactivas y no reactivas, clasificándolas morfológicamente como tipos I, II, III, IV y

V, basándose en criterios previamente documentados (Diz-Chaves, 2012) Los tipos I, II y III se clasificaron como glía no reactiva, mientras que los tipos IV y V se tomaron como glía reactiva.

Volumen del SR y de la capa granular del GD Con el fin de evaluar el volumen del Stratum Radiatum (SR) y de la capa granular del GD se realizó un enfoque estereológico en cortes coronales del hipocampo dorsal. El volumen se estimó empleando el método de Cavalieri (West M. J., 1990) ($\text{volumen} = t \times \sum A_i$, en donde t es la distancia entre las secciones y $\sum A_i$ representa la suma de áreas de cada sección). Las medidas fueron realizadas en imágenes teñidas con Nissl, ya que este marcajes permiten visualizar bien las capas piramidal y granular del hipocampo, para delimitar las áreas de interés. Para el SR, nuestra región de interés se estableció como el área delimitada por la capa piramidal CA1 como límite superior, el *Stratum Lacunosum Moleculare* (SLM) como límite inferior y un ancho fijo de 520 μm como límite lateral cuyo punto medio fue el punto máximo de curvatura de la capa piramidal. Para la capa granular del GD, se usaron imágenes del GD en mosaico adquiridas con un objetivo de 20x, y se seleccionó como región de interés (ROI) la capa granular en toda su extensión. La distancia de separación entre las secciones muestreadas fue de 240 μm en el eje anterior-posterior.

Análisis de Sholl: Para el análisis de

células astrogliales, se utilizaron imágenes calibradas obtenidas con objetivo de inmersión (100x). Con el fin de estimar el área ocupada por los cuerpos y procesos celulares, los astrocitos GFAP-ir se segmentaron como se describió anteriormente para el análisis de las neuronas maduras. Para cada animal, la suma de las áreas inmunorreactivas se dividió por el número de secciones. Para estudiar la complejidad de procesos astrogliales, los astrocitos GFAP-ir se evaluaron mediante el análisis de Sholl (Sholl, 1953). El análisis de Sholl realiza el recuento del número de procesos que intersecan con los círculos concéntricos a distancias iguales (5 μm) de un diagrama que se centra en el soma de la célula (Fig 7C). De cada rata, se eligieron 25 astrocitos al azar. Se contaron los procesos primarios de cada célula (es decir, las prolongaciones que emergen directamente del soma) y las imágenes se convirtieron en monocromáticas de 8 bits y se analizaron mediante el plugin de análisis Image J Sholl, disponible en https://sites.imagej.net/Sholl_Analysis/.

De esta forma, el software contabilizó el número de intersecciones de los procesos por anillo (i). Adicionalmente, se estimó la longitud total de los procesos mediante la suma de los valores de i para cada anillo multiplicado por 5 (distancia entre anillos). Por otro lado, se realizó el recuento de las células positivas para GFAP, utilizando una grilla cuadrada de 2500 μm^2 de área superpuesta sobre las imágenes. Se

tomaron como límites de inclusión las líneas inferiores y derechas, y como límite exterior las líneas superior e izquierda. Para cada animal, se normalizó el número de células contadas por la cantidad de secciones.

Western blot

Para obtener lisados de proteínas, los hemi-hipocampos derechos fueron homogeneizados con buffer RIPA (NaCl 150 mM, Triton X-100 1%, deoxicolato de sodio 0,5%, SDS 0,1%, Tris-HCl 50 mM pH 8, e inhibidores de proteasas y fosfatasa, pH 7,4) previamente enfriado. Luego de centrifugar a 13000 rpm durante 15 min a 4°C y recolectar el sobrenadante, la concentración de proteínas se midió mediante el ensayo de proteínas de Bradford (Coomassie Brilliant Blue G al 1% p/v, etanol al 95%, y ácido fosfórico al 85%), midiendo absorbancia a 595 nm. Se utilizó una curva estándar de BSA (concentraciones entre 0,1-1 mg/ml). Las muestras se alicuotaron y se almacenaron a -80°C hasta su uso.

Se separaron cantidades iguales de proteínas (50 µg) de cada muestra en un gel SDS-PAGE al 10%, y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Cat#1620115, Bio-Rad Laboratories). La migración de proteínas y su transferencia a la membrana se comprobó sistemáticamente utilizando rojo Ponceau. Las membranas se bloquearon en leche descremada al 5% en solución salina

tamponada con Tris/Tween-20 (TBS-T) durante 1 h a temperatura ambiente y luego se incubaron durante toda la noche, en agitación constante y a 4°C con anticuerpos primarios (β-actina Control de carga Ratón Santa Cruz Biotechnology, sc-47778, 1:1000; Residuos 672-714 de APP Péptido βA Ratón Santa Cruz Biotechnology, sc-28365, 1:200). A continuación, las membranas se incubaron con el correspondiente anticuerpo secundario (IgG ratón Anticuerpo 2rio -HRP Cabra Jackson Immuno Research Laboratories, #115-035-003 1:20000) acoplado a la enzima peroxidasa HRP durante 3 h a temperatura ambiente. Tras el lavado con TBS-T, la visualización de la membrana se realizó con el sustrato quimioluminiscente Super Signal West Pico PLUS Chemiluminescent substrate (Thermo Fisher Scientific, #34577) utilizando Chemidoc Image Station (Bio-Rad, Hercules, CA). La densidad óptica relativa de las bandas de proteínas se analizó utilizando el software ImageJ.

Resultados y Discusión

Deterioro en la memoria espacial

Con el objetivo de comparar los resultados de ambos experimentos y evaluar si el efecto de la STZ sobre el comportamiento de los animales varía según el tiempo post administración, se analizaron los datos de los cuatro grupos experimentales mediante un ANOVA de dos factores:

tratamiento (factor STZ) y tiempo. En cuanto a la latencia al agujero meta, no se observaron diferencias significativas dentro de los grupos control ni dentro de los grupos STZ entre los dos tiempos de evaluación (**Fig. 2A**). Algo similar se observó para los errores cometidos, aunque en este parámetro, la diferencia entre Sham y STZ, previamente reportada para el experimento de 25 días, se mantuvo significativa, mientras que la diferencia a los 95 días ya no fue significativa (**Fig. 2B**) (ANOVA de dos factores; factor STZ: $F(1, 22)=15,55$, $p=0,0007$; factor tiempo: $F(1, 22)=0,0461$, $p=0,8329$; interacción: $F(1, 22)=0,1844$, $p=0,6718$). Las diferencias encontradas para las exploraciones del GS y del agujero meta terminaron volviéndose no significativas al analizar los cuatro grupos juntos (**Fig. 2C, D**), aunque en ambos casos el efecto del tratamiento con STZ fue significativo, sin evidencias de interacción con el tiempo post inyección ($p\text{-valor} > 0,05$) (ANOVA de dos factores; factor STZ [frecuencia GS]: $F(1, 22)=10,19$, $p=0,0042$; factor STZ [%exploraciones agujero 0]: $F(1, 22)=12,24$, $p=0,002$).

El deterioro en el aprendizaje y en la memoria espacial en ratas tratadas con STZ-icv fue evaluado en numerosos trabajos, principalmente a través del Morris Water Maze (MWM), a diferentes dosis de STZ (0,5–6 mg/kg), y en distintos tiempos tras la inyección (Agrawal, 2011)

(Grünblatt, 2007) (Kumar, 2018) (Rostami, 2017). Nuestros resultados obtenidos con el LB confirman que la administración de STZ deteriora la memoria espacial tanto a corto como a mediano plazo (Zappa Villar MF L. H., 2020) (Zappa Villar MF L. H., 2018). Sin embargo, al comparar los dos tiempos post STZ, no se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados con STZ en ninguno de los parámetros evaluados, siendo la única diferencia significativa persistente la observada entre los grupos Sham y STZ a los 25 días, en el número de errores cometidos.

Cabe destacar que una limitación del estudio radica en el tamaño de muestra (N) empleado para los análisis comportamentales, lo que podría explicar la falta de significación estadística en algunas tendencias observadas. Es posible que, al aumentar el N, dichas tendencias se consoliden en diferencias significativas.

Nuestros datos sugieren que el deterioro de la memoria espacial es más pronunciado a los 25 días post STZ, un período que puede considerarse agudo en comparación con tiempos más prolongados. Esta observación resulta coherente con lo reportado por el grupo de la Dra. Salkovic-Petrisic, cuyos estudios longitudinales, utilizando una dosis de 3 mg/kg de STZ-icv, permitieron identificar distintos momentos en la evolución de la patología. Durante el primer mes posterior

a la inyección, se observa una fase aguda con una marcada desregulación en la señalización de insulina a nivel central y un pronunciado deterioro de la memoria, lo que refleja un efecto tóxico directo de la droga. Entre 1 y 3 meses, estos efectos tienden a atenuarse, posiblemente por mecanismos de compensación transitoria, y este período ha sido vinculado con las etapas iniciales del deterioro cognitivo leve en humanos. A partir de los tres meses, se instala progresivamente un estado de insulino-resistencia en el cerebro, acompañado por un agravamiento de los déficits cognitivos, reflejando una fase crónica del modelo. Así, tanto las alteraciones tempranas como las crónicas inducidas por la STZ-icv constituyen herramientas útiles para estudiar distintas etapas de la EAE, ya sea para explorar mecanismos etiopatogénicos como para evaluar intervenciones terapéuticas dirigidas a modificar la progresión de la enfermedad.

En resumen, si bien la STZ-icv afectó la memoria espacial en ambos experimentos, la comparación entre ambos tiempos sugiere que el efecto de la droga es más marcado a corto plazo que a mediano plazo post inyección icv.

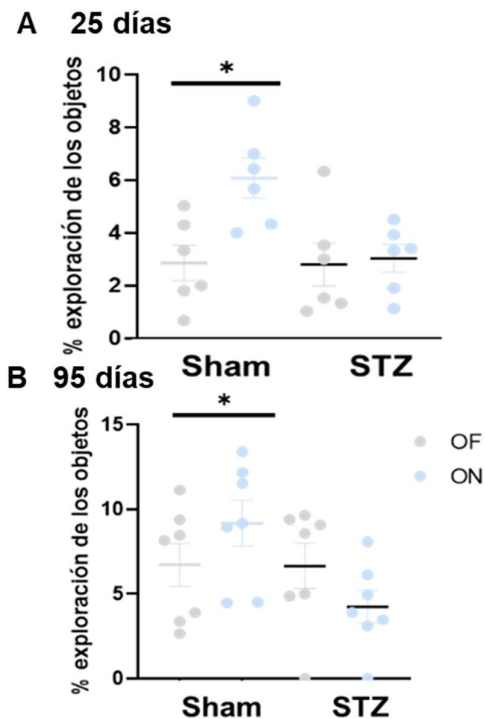


Figura 2: Comparación de los resultados de memoria espacial entre 25 y 95 días post STZ. Latencia a encontrar el agujero 0 (A), errores(B), frecuencia de exploración del GS (C), y porcentaje de exploración del agujero 0 (D). El esquema muestra la plataforma usada durante el test, con el sector meta (GS) comprendido por los agujeros -1, 0 y 1. Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos factores y se expresaron como media $\pm$ SEM. * $p < 0,05$.

Deterioro en la memoria de reconocimiento de objeto

La memoria de reconocimiento de objeto fue evaluada mediante el test RO. Como se observa en la figura 3, en ambos experimentos, los animales del grupo control mostraron recordar el objeto familiar, que conocieron durante la fase de entrenamiento, dado que prefirieron explorar durante más tiempo el objeto

nuevo. Sin embargo, la STZ-icv perjudicó este tipo de memoria, ya que las ratas de ambos grupos tratados con STZ no mostraron preferencia por el objeto nuevo (**Fig. 3A**, Exp. 25 días, t-test pareado: grupo Sham: $p=0,0437$; grupo STZ: $p=0,8116$. **Fig. 3B**, Exp. 95 días, t-test pareado: grupo Sham: $p=0,0218$; grupo STZ: $p=0,1041$). Estos resultados indican que la administración de STZ impacta negativamente en la memoria de reconocimiento tanto en el corto como en el mediano plazo.

Aunque este no fue un estudio longitudinal, nuestros resultados sugieren que el déficit en la memoria de reconocimiento inducido por STZ se manifiesta tempranamente y persiste al menos hasta los 95 días post inyección, en línea con estudios previos que reportaron alteraciones similares a las 5 y 15 semanas (Rostami, 2017). Este tipo de prueba resulta particularmente útil para caracterizar modelos preclínicos de EA, ya que los pacientes con la enfermedad presentan dificultades tanto para recordar el contexto espacio-temporal de los eventos como para reconocer objetos familiares (Webster, 2014)

Si bien la implicancia del hipocampo en la memoria espacial está ampliamente respaldada por la literatura (O'Keefe, 1971) (Moser, 1993) su rol en la memoria de reconocimiento sigue siendo debatido, con resultados contradictorios entre estudios (Mumby, 2001) (Broadbent,

2004). Estas discrepancias podrían deberse a diferencias metodológicas o biológicas entre modelos. No obstante, se reconoce que esta forma de memoria también involucra otras regiones cerebrales, como la corteza entorrinal, perirrinal y prefrontal medial (Akirav, 2006), lo que sugiere que la administración de STZ-icv podría comprometer redes neuronales extendidas involucradas en diferentes aspectos de la memoria.

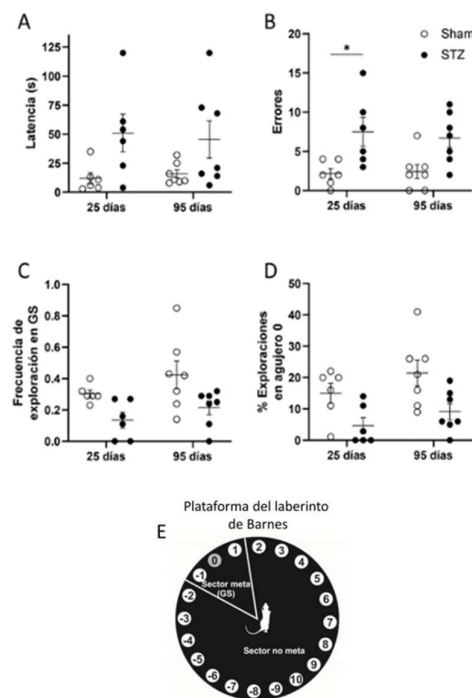


Figura 3: La STZ-icv afecta la memoria de reconocimiento de objeto. A ambos tiempos experimentales, Los animales control mostraron preferencia de exploración por el ON en lugar del OF, mientras que animales STZ no mostraron preferencia por objeto, signo de memoria deteriorada. Las comparaciones se realizaron dentro de un mismo grupo con t-test pareado, en la fase de reconocimiento del RO. OF: Objeto familiar,

ON: objeto nuevo. Los datos se expresaron como media $\pm$ SEM. * $p < 0,05$.

Expresión de péptido β -amiloide en hipocampo

Con el objetivo de evaluar si la administración de STZ-icv induce un aumento en la expresión de proteínas típicamente asociadas a la patología de la EA, analizamos por WB los niveles del β A en lisados hipocampales a distintos tiempos post inyección. A los 25 días post-STZ, observamos un aumento significativo en la expresión de β A respecto al grupo Sham (**Fig.4A**) (t-test de Student: $p=0,0015$). Sin embargo, este aumento no se mantuvo a los 95 días post-STZ, momento en el cual no se registraron diferencias significativas entre los grupos (**Fig.4B**).

Este patrón temporal sugiere que la STZ-icv genera un aumento transitorio en la expresión de β A en el hipocampo, más marcado durante la fase aguda. Estos resultados concuerdan con estudios previos que detectaron un aumento en la carga amiloide en tiempos relativamente cortos post-STZ (Wu, 2018) aunque en nuestro caso no observamos acumulación sostenida. Esta ausencia podría explicarse por una reducción en la fracción soluble del péptido, afectando su detección por WB, o por mecanismos compensatorios en etapas más avanzadas. Asimismo, no se detectaron placas amiloides, lo que es consistente con la bibliografía previa que señala que

este modelo no siempre reproduce ese aspecto de la patología (Knezovic, 2015).

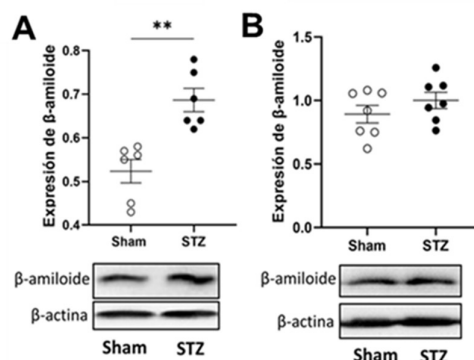


Figura 4: La STZ-icv aumenta la expresión del péptido β A, a corto pero no a mediano plazo. Las proteínas del hipocampo se detectaron mediante WB y se normalizaron con β -actina. Los datos se analizaron con t-test de Student y se expresaron como media $\pm$ SEM. * $p < 0,01$.

Incremento y morfología alterada de la glía reactiva en el modelo STZ-icv

La administración de STZ-icv indujo un aumento significativo en la reactividad glial en el hipocampo, con alteraciones tanto en microglía como en astrocitos.

Al comparar los cuatro grupos experimentales para evaluar diferencias entre los grupos tratados con STZ, observamos que la edad no afectó el número de células Iba1-ir en los controles. Sin embargo, el tiempo post-STZ sí influyó, ya que el recuento de células Iba1-ir fue significativamente mayor a los 25 días en comparación con los 95 días después de la inyección (ANOVA de dos factores, factor STZ: $F(1, 22)=36,15$, $p<0,0001$, factor tiempo: $F(1, 22)= 5,309$,

$p=0,0310$, interacción: $F(1, 22)= 9,039$, $p=0.0065$), sugiriendo una proliferación o reclutamiento microglial durante la fase aguda (**Fig.5**). Este aumento temprano puede contribuir a un microambiente neuroinflamatorio que impacta negativamente la función neuronal, en línea con reportes previos que asocian la microgliosis con la progresión de la EA (Olmos-Alonso, 2016).

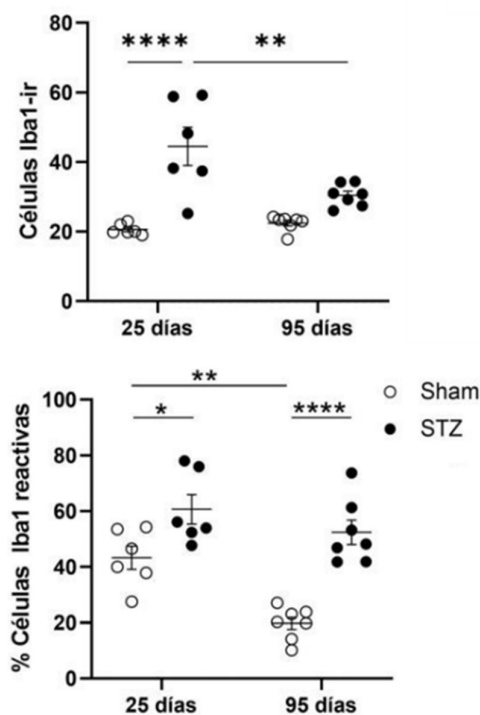


Figura 5: Reacción de la microglía frente a la inyección de STZ-icv. Se cuantificó el número de células microgliales Iba1 inmunoreactivas (ir). Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos factores y se expresaron como media $\pm$ SEM. * $p < 0,01$, *** $p < 0,0001$.

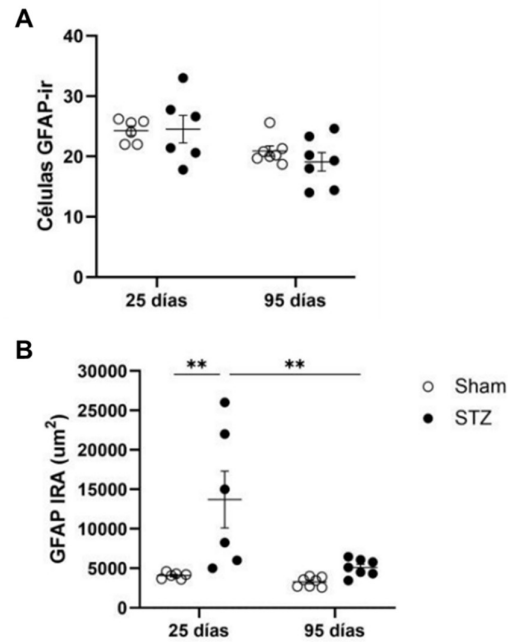


Figura 6: Reacción de los astrocitos frente a la inyección de STZ-icv. Se cuantificó el número de células astrogiales positivas para GFAP y el IRA de GFAP a 25 días. Los datos se analizaron ANOVA de dos factores y se expresaron como

En cuanto a los astrocitos, no se observaron cambios significativos en el número de células GFAP-ir (**Fig. 6A**), indicando ausencia de proliferación, pero sí un aumento en el IRA de GFAP, a 25 días, más pronunciado que a 95 días (**Fig.6B**) (ANOVA de dos factores, factor STZ: $F(1, 22)= 11,77$, $p=0,0024$, factor tiempo: $F(1, 22)= 7,926$, $p=0,0101$, interacción: $F(1, 22)= 5,456$, $p=0,029$). Esto refleja una hipertrofia o remodelamiento fenotípico de astrocitos reactivos, similar a lo reportado en modelos murinos y pacientes con EA (Escartín, 2021).

Por otro lado, el análisis de Sholl mostró que la STZ-icv generó una disminución significativa en la complejidad de la

arborización astrocitaria en el grupo de 25 días post inyección, con una menor cantidad de intersecciones de procesos en regiones cercanas al soma (10 y 15 μm del centro) en comparación con su grupo control (**Fig. 7A**). Aunque el efecto del tratamiento no alcanzó significación estadística global (factor STZ), sí se observaron efectos significativos del tiempo y de la distancia al soma (ANOVA de tres factores con medidas repetidas: factor STZ: $F_{(1, 22)}=3,270, p=0,0842$; factor tiempo: $F_{(1, 22)}= 40,82, p<0.0001$; factor distancia al soma $F_{(2,587, 56,90)}=973,0, p<0.0001$) lo que refleja una reorganización importante de la morfología astrocitaria. En concordancia, la STZ también indujo una disminución en la longitud de las prolongaciones (**Fig. 7B**), aunque el efecto del tratamiento no fue significativo por sí solo, sí lo fue el tiempo post inyección y la interacción entre ambos factores (ANOVA de dos factores, factor STZ: $F_{(1, 22)}= 1,280, p=0,2701$, factor tiempo: $F_{(1, 22)}= 4,684, p=0,0416$, interacción: $F_{(1, 22)}= 10,76, p=0,0034$). Asimismo, se observó una reducción en el número de prolongaciones primarias en el grupo STZ de 25 días, aunque la interacción no alcanzó significación (**Fig. 7C**) (ANOVA de dos factores, factor STZ: $F_{(1, 22)}= 7,220, p=0,0135$, factor tiempo: $F_{(1, 22)}= 8,901, p=0,0069$, interacción: $F_{(1, 22)}= 3,370, p=0,0800$).

A los 95 días post STZ, no se encontraron

diferencias significativas entre los grupos STZ y Sham en estos parámetros, lo que sugiere que la morfología astrocitaria se ve más afectada en la fase aguda del modelo. Adicionalmente, al comparar los dos grupos control, los astrocitos de las ratas Sham del experimento de 95 días mostraron una menor arborización en las zonas más distales (a partir de los 20 μm del soma) (**Fig. 7A**), así como una reducción en la longitud de las prolongaciones (**Fig. 7B**) y en el número de procesos primarios (**Fig. 7C**), respecto del grupo Sham de 25 días. Esta observación podría estar relacionada con cambios asociados al envejecimiento fisiológico.

En conjunto, nuestros resultados sugieren que la STZ-icv induce una reactividad astrocitaria aguda caracterizada por reducción de la complejidad morfológica, posiblemente asociada a hipertrofia del soma y retracción de procesos finos, efectos que se atenúan con el tiempo. La contribución de esta respuesta glial a la neuroinflamación y al deterioro cognitivo observado en el corto plazo podría ser relevante, aunque para caracterizar en profundidad su papel funcional sería necesario evaluar marcadores adicionales que permitan discriminar entre fenotipos proinflamatorios y neuroprotectores, así como explorar la participación de monocitos infiltrados, cuestiones no abordadas en este estudio.

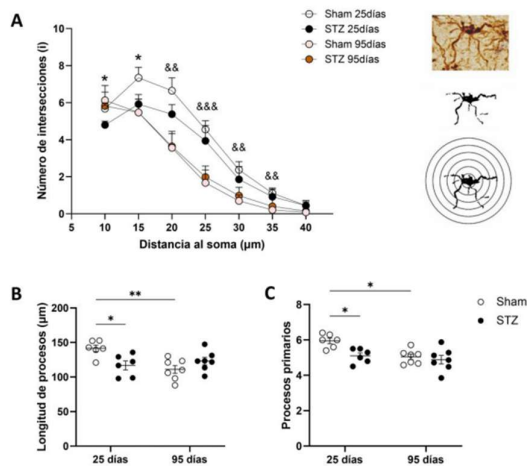


Figura 7: Análisis de Sholl de los astrocitos del SR de CA1 en el modelo de STZ-icv. Se evaluó el número de intersecciones de los procesos celulares con cada anillo espaciado de 5 μm (A). Se cuantificó y comparó la longitud de los procesos astrogiales, estimada mediante la suma de los valores de (i) para cada anillo, multiplicada por 5 (B), y el número de procesos primarios de cada célula, como el número de prolongaciones que emergen directamente desde el soma celular (C). Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos factores (B, C), o de tres factores con medidas repetidas (A) y se expresaron como media $\pm$ SEM. En gráfico A, el símbolo * indica diferencias significativas entre Sham y STZ de 25 días, mientras que el símbolo & indica diferencias significativas entre Sham 25días y Sham 95 días. * $p < 0,05$; & $p < 0,05$; && $p < 0,01$; &&& $p < 0,001$; &&&& $p < 0,0001$ media $\pm$ SEM. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Atrofia hipocampal en el SR de CA1 asociada a STZ-icv

El volumen del SR de CA1 se encontró significativamente reducido en ratas tratadas con STZ-icv, tanto a corto (25 días) como a mediano plazo (95 días) post inyección, aunque la diferencia con respecto a los controles solo se mantuvo

significativa en el grupo de 25 días (Fig. 8A) (ANOVA de dos factores, factor STZ: $F_{(1, 22)} = 29,32$, $p < 0,0001$, factor tiempo: $F_{(1, 22)} = 1,548$, $p = 0,2266$, interacción: $F_{(1, 22)} = 2,320$, $p = 0,1420$). Esta atrofia estructural del hipocampo dorsal es coherente con la evidencia clínica que vincula la reducción volumétrica de esta región con déficits cognitivos en EA (Jack, 2011) (Su, 2018).

La persistencia del daño estructural a mediano plazo, aunque menos pronunciado, coincide con la presencia de déficits cognitivos menos severos en este tiempo, sugiriendo un proceso degenerativo progresivo o parcialmente compensado. La vulnerabilidad del SR de CA1 podría estar relacionada con la pérdida sináptica y alteraciones gliales observadas, afectando la integridad de las conexiones neuronales esenciales para la memoria espacial y otras funciones cognitivas.

En resumen, el modelo STZ-icv mostró diferencias temporales relevantes en los efectos neurobiológicos y conductuales evaluados a 25 (corto plazo) y 95 días (mediano plazo) post inyección. En ambas etapas se evidenciaron alteraciones cognitivas, aunque la afectación fue más marcada a 25 días, especialmente en errores cometidos, lo que sugiere un deterioro más severo en el periodo agudo.

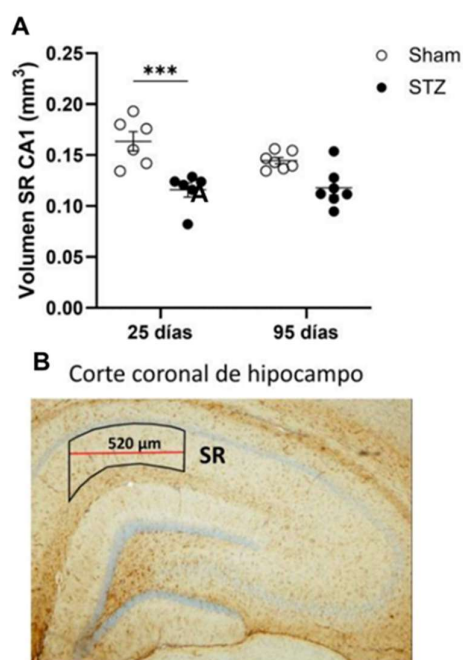


Figura 8: La STZ-icv provoca atrofia hipocampal en CA1. (A) Comparación del volumen a ambos tiempos post STZ. (B) Corte coronal representativo del hipocampo dorsal, rectángulo marcando la zona cuantificada. Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos factores, y se expresaron como media $\pm$ SEM. *** $p < 0,001$.

Conclusiones

El análisis del modelo esporádico de EA inducido por STZ-icv permitió comparar las respuestas cognitivas y neurobiológicas a corto (25 días) y mediano plazo (95 días) post inyección. Nuestros resultados indican que los efectos de la STZ varían en intensidad según el tiempo de evaluación, lo que representa un aspecto clave a considerar en el diseño de estrategias terapéuticas.

Se observaron déficits consistentes en la memoria espacial y de reconocimiento en ambos momentos post-STZ. No obstante, las alteraciones bioquímicas y celulares en

el hipocampo mostraron diferencias temporales: la fase aguda se caracterizó por un aumento transitorio del péptido β -amiloide, una mayor reactividad glial y una reducción significativa en la complejidad morfológica astrocitaria, mientras que a mediano plazo estas alteraciones fueron más atenuadas. La atrofia en el estrato radiado de CA1 persistió en ambos tiempos, aunque solo fue significativa a corto plazo.

Estos hallazgos destacan la naturaleza dinámica del modelo STZ-icv y aportan una base para la selección racional de ventanas terapéuticas. En este sentido, los tratamientos de acción rápida podrían ser más eficaces en fases tempranas, mientras que estrategias de modulación sostenida podrían ser más apropiadas para etapas posteriores del curso patológico.

Estos resultados no solo fortalecen la caracterización temporal del modelo STZ-icv, sino que también orientan el diseño de intervenciones terapéuticas específicas para distintas fases de la enfermedad.

Referencias Bibliográficas

- Agrawal, R. T. (2011). Insulin receptor signaling in rat hippocampus: A study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *European Neuropsychopharmacology*, 21(3), 261–273.
- Akirav, I. &. (2006). Ventromedial prefrontal cortex is obligatory for consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Cerebral Cortex*, 16(12).

- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(1), 74–104.
- Blokland, A. &. (1993). The cholinergic basis of Alzheimer's disease: Effects of nicotinic and muscarinic antagonists on cognitive performance in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 17(1), 69–79.
- Broadbent, N. J. (2004). Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(40), 14515.
- De la Monte, S. M. (2006). Therapeutic interventions for insulin resistance-associated neural degeneration. *Experimental Neurology*, 197(1), 47–58.
- Deshmukh, P. e. (2016). Intracerebroventricular streptozotocin treatment in rats: A functional and behavioral study. *Behavioural Brain Research*, 312, 116–125.
- Diz-Chaves, Y. P.-S. (2012). Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 71.
- Duelli, R. &. (1994). Interrelation between glucose metabolism and neuronal activity in the brain. *Pharmacological Reviews*, 46(3), 407–439.
- Escartín, C. e. (2021). Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nature Neuroscience*, 24(3), 312–325.
- Grünblatt, E. P. (2007). Tau hyperphosphorylation in neurodegenerative disease models. *Journal of Neurochemistry*, 101(4), 1253–1265.
- Hashemi-Firouzi, N. e. (2017). Novel object recognition as a hippocampus-dependent task. *Behavioural Brain Research*, 329, 180–188.
- Heo, J. H. (2011). Altered brain glucose metabolism following intracerebroventricular streptozotocin. *Neurobiology of Aging*, 32(3), 675–684.
- Jack, C. R. (2011). Step to standardization and validation of hippocampal volumetry as biomarker in clinical trials and diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 7(4), 474.
- Knezovic, A. e. (2015). Longitudinal changes in cognitive function in the STZ model of sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(3), 749–767.
- Kumar, M. &. (2018). Caffeic acid phenethyl ester rescued streptozotocin-induced memory loss through PI3-kinase dependent pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 101, 162–173.
- LaFerla, F. M. (2007). Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. *In Nature Reviews Neuroscience*, (Vol. 8, Issue 7, pp. 499–509).
- Llorens-Martín, M. J. (2014). GSK-3 β , a pivotal kinase in Alzheimer diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 7, 46.
- Morel, P. e. (2015). Barnes maze variant for assessing cognitive aging in rats. *Aging & Mental Health*, 19(6), 507–516.
- Moser, E. M. (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *the journal of neuroscience*, 13(9), 3916.
- Mumby, D. G. (2001). Perspectives on object-recognition memory following hippocampal damage: Lessons from studies in rats. *Behavioural Brain Research*, 127(1–2).
- Nunomura, A. e. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration in Alzheimer's disease: Characteristic biochemical changes. *Journal of Neurochemistry*, 96(6), 1731–1739.
- O'Keefe, J. &. (1971). The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit

- activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1), 171–175.
- Olmos-Alonso, A. S.-C.-N. (2016). Pharmacological targeting of CSF1R inhibits microglial proliferation and prevents the progression of Alzheimer's-like pathology. *Brain*, 139(9).
- Padurariu, M. e. (2012). Neuronal density loss in CA3 region in Alzheimer's disease models. *Neurochemical Research*, 37(4), 766–771.
- Paxinos, G. &. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates (6th ed.)*.
- Rostami, E. e. (2017). Cognitive decline in rats after intracerebroventricular streptozotocin: Behavioral analysis. *Behavioural Brain Research*, 325, 111–121.
- Salkovic-Petrisic, M. &. (2007). Central insulin resistance and streptozotocin model of Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 82(4), 226–240.
- Salkovic-Petrisic, M. e. (2009). Brain insulin resistance induced by intracerebroventricular streptozotocin. *Neurobiology of Disease*, 33(1), 279–292.
- Schubert, M. B. (2004). Schubert, M., Brazil, D. P., Burks, D. J., Kushner, J. A., Ye, J., Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes tau phosphorylation. *Journal of Neuroscience*, 24(32), 7084–7092.
- Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's disease: Genes, proteins, and therapy. *Physiological Reviews*, 81(2), 741–766.
- Shoham, S. B. (2003). Intracerebroventricular streptozotocin: A novel model of memory dysfunction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(1), 13–20.
- Sholl, D. (1953). Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. *J. Anat.*
- Su, Y. e. (2018). Hippocampal subfield degenerative effects and cognitive decline in Alzheimer's disease. *NeuroImage: Clinical*, 20, 132–139.
- Webster, S. J. (2014). Using mice to model Alzheimer's dementia: An overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. *Frontiers in genetic*, 5.
- West, M. J. (1990). Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. *Journal of Comparative Neurology*, 296(1), 1–22.
- West, M. J. (1994). Hippocampal neurons in early and late Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 35(6), 733–741.
- Wu, C. Y. (2018). Beneficial effects of exercise pretreatment in a sporadic Alzheimer's rat model. *Neurobiology of Aging*, 65, 20–30.
- Yankelevitch-Yahav, R. F. (2018). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *JoVE*.
- Zappa Villar MF, L. H. (2018). Intracerebroventricular streptozotocin induces impaired Barnes maze spatial memory and reduces astrocyte branching in the CA1 and CA3 hippocampal regions. *J Neural Transm (Vienna)*.
- Zappa Villar MF, L. H. (2020). Mesenchymal Stem Cells Therapy Improved the Streptozotocin-Induced Behavioral and Hippocampal Impairment in Rats. *Neurobiol.*
- Zappa Villar MF, L. H. (2021). Insulin-like growth factor 1 gene transfer for sporadic Alzheimer's disease: New evidence for trophic factor mediated hippocampal neuronal and synaptic recovery-based behavior improvement. *Hippocampus*.

39- Salud humana

Estudio de la interacción de la proteína no estructural 5 de Flavivirus con ARN del huésped por métodos bioinformáticos

Autor: Mauricio Ezequiel Challiol, mau.challiol@gmail.com

Orientador: Gabriel Nestor Iglesias, gabriel.iglesias@unahur.edu.ar

Universidad Nacional de Hurlingham

Resumen

Los flavivirus presentan mecanismos sofisticados de interacción hospedador-virus. La proteína no estructural 5 (NS5), multifuncional, es central en este proceso. Aunque la replicación viral es citoplasmática, NS5 se transloca al compartimento nuclear, donde modula la expresión génica del hospedador a través de mecanismos aún no completamente elucidados. Se ha demostrado que proteínas NS5 de diferentes flavivirus exhiben especificidad por la estructura conservada Stem-loop A (SLA) del ARN genómico viral, esencial para la replicación.

Basado en esta plasticidad de reconocimiento, se hipotetiza que NS5 podría interactuar con ARN del hospedador que presenten motivos estructuralmente similares al SLA viral. La validación inicial de esta hipótesis se abordó mediante un enfoque bioinformático *in silico*. Este incluyó alineamientos de secuencia, desarrollo de modelos de covarianza para identificar estructuras de ARN conservadas, y análisis estructural comparativo entre potenciales motivos en ARN y estructuras SLA virales canónicas.

Palabras clave: Stem-loop A, NS5, flavivirus

Introducción

Los virus de la familia *Flaviviridae* son patógeno transmitidos por vectores principalmente mosquitos y garrapatas, estos virus constan de 3 proteínas estructurales y 7 no estructurales, al ser infectada la célula diana (célula dendrítica, linfocito T CD4 o linfocito T CD8), inicialmente se expresan como una poliproteína. Las proteínas estructurales, de la envoltura, la cápside y la proteína de membrana, forman parte de la partícula viral, mientras que las no estructurales, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5, están implicadas en la maquinaria de replicación viral (1).

Las enfermedades producidas por arbovirus son un problema muy grave a nivel mundial. Debido a que su vigilancia y prevención implica también la vigilancia de sus vectores, se dificulta su control y casi imposible evitar su expansión en regiones tropicales, subtropicales e incluso, templadas. Son virus con genoma a ARN predominantemente transmitidos por mosquitos y mantenidos en ciclos complejos con huéspedes vertebrados tales como mamíferos o aves. El comercio de esclavos fue uno de los eventos que marcó la primera aparición registrada en nuestro continente de dos arbovirus: el virus de la Fiebre Amarilla y el Dengue. Desde entonces, muchos otros han surgido de sus reservorios silvestres y se han dispersado a

nivel mundial debido a factores que incluyen la evolución viral, conducta antropológica, transporte comercial, cambio climático y cambio de uso de suelos, entre otros. Nos encontramos frente a la emergencia o reemergencia de agentes virales descritos por primera vez en su mayoría entre los 40' y 50' pero cuyos cuadros clínicos y ciclos de transmisión no han sido completamente caracterizados. Diversos flavivirus han sido detectados en Argentina: YFV, Encefalitis de Saint Louis (SLEV), del Nilo Occidental (WNV), Ilheus (ILHV), Dengue 1, 2, 3 y 4 (DENV 1-4), Zika (ZIKV) y Bussuquara (BSQV). En algunos casos sólo se detectaron los ciclos enzoóticos y otros han sido identificados como los agentes causales de brotes limitados o casos humanos esporádicos. Actualmente el Dengue es el que ha generado la incidencia más significativa en las provincias de la parte subtropical y templado del país, pero la posible introducción y circulación de otros virus, podría complejizar el escenario epidemiológico.(2,3)

Un paso esencial para el virus en su ciclo de replicación es identificar y replicar el genoma viral entre todos los ARN presentes en el citoplasma de la célula huésped. Sin embargo, si bien se ha estudiado y hemos estudiado este mecanismo, cómo funciona la polimerasa viral reconociendo y copiando selectivamente el genoma de ARN viral no se conoce en detalle. En los flavivirus, el

extremo 5' del genoma de ARN viral contiene una estructura de ARN de 70 nucleótidos de largo, llamado *Stem-loop A* (SLA) (Figura 1), que funciona como promotor de la replicación del genoma (4). Durante la replicación, la polimerasa flaviviral NS5 reconoce específicamente al SLA para iniciar la síntesis de ARN viral y metilar el 5' del virus (5). Si bien las secuencias de esta región varían entre diferentes flavivirus, las estructuras secundarias se conservan en el, lo que sugiere que los virus reconocen una característica estructural común para replicar el genoma viral además de características particulares de secuencia (6). Además, se ha determinado que la proteína NS5 es la más conservada entre todas, con un 70% de identidad entre las distintas cepas (7).

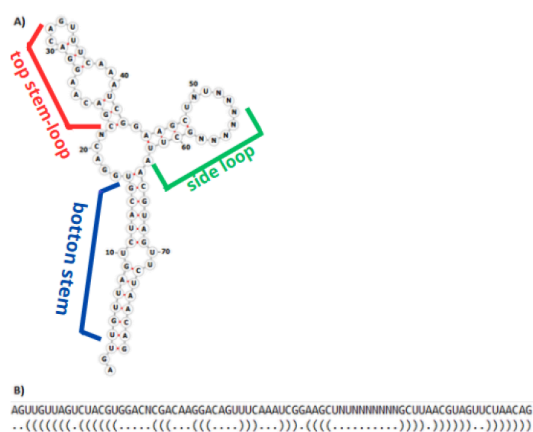


Figura 1: Estructura consenso generada por ViennaRNA servicio web herramienta La segunda base es donde se almacenan la mayoría de secuencias que se utilizan en la investigación, estas mismas abarcan desde

RNAalifold. Se utilizaron las secuencias de SLA de DENV1-4 (números de acceso NCBI, NC_001477.1, MK268692.1, AY679147.1, KU513441), Yellow fever virus strain (MK333800.1) y ZIKV (NC_035889) A) Se muestra la estructura generada del consenso del alineamiento. B) Estructura consenso expresada en formato *dot-parenthesis* y secuencia consen

Objetivos:

- Caracterizar los requerimientos estructurales a nivel del ARN que determinan la unión específica de la polimerasa viral.
- Identificar potenciales sitios de unión de la polimerasa viral en moléculas de ARN celular.

Materiales y métodos:

Hardware:

Computadora laptop ASUS X541NA procesador Intel(R) Celeron(R) CPU N3350 @ 1.10GHz 1.10 GHz con 4Gb de RAM y SSD de 800 Gb de almacenamiento.

Software:

Bases de datos: Las bases de datos utilizadas en esta investigación fueron UTRdb 2.0 y GenBank (8). La primera base almacena las secuencias UTR 3' y 5' de ARNm de diversas especies. En nuestro caso, se obtuvieron todas las secuencias correspondientes a UTR 3' y 5' del humano.

datos de secuenciaciones hasta mutantes o quimeras.

Herramientas bioinformáticas:

R-coffee:

Este programa se utilizó para alinear en instancias iniciales de la investigación, el mismo alinea ARN combinado algoritmos de alineamientos de secuencia y estructura, también se demostró que está especializado en secuencias cortas de menos de 200 nucleótidos, se le ingresó archivo fasta múltiple que luego se convertirían en un archivo Stockholm. (9)

ViennaRNA servicio web:

ViennaRNA servicio web es un conjunto de programas bioinformáticos que se pueden ejecutar desde navegador e incluyen funciones de predicción de estructura secundaria de ARN, formación de estructura consenso a partir de un alineamiento, generar secuencias nucleótidas con base en una estructura predeterminada entre otras, en la investigación se utilizó los subprogramas para realizar las tareas explicadas anteriormente. (10)

Servidor RNAfold: es una subfunción incluida en el pack viennaRNA que, a través de modelos de energía mínima, predice estructuras secundarias y te realiza la salida en formato dot-parenthesis .

Servidor RNAalifold: Este servidor web permite ingresar como entrada un alineamiento de secuencias múltiples y, como salida, te entrega la secuencia consenso y la estructura consenso secundaria en formato dot-parenthesis .

RNAinverse server web: creador de secuencias aleatorias con base en la

estructura secundaria. Como entrada de dicha función, se le entrega una estructura secundaria en formato dot-parenthesis, recibiendo como resultado una secuencia creada aleatoriamente que se adapta a la estructura dada.

Forna server: visualizador interactivo de estructuras de ARN.

RNAstructure:

Programa ejecutable en la web que, utilizando modelos de energía mínima, este mismo permite visualizar la estructura secundaria y fue utilizado para buscar estructuras subóptimas de las secuencias hit obtenidas en las búsquedas, que se asemejan de manera más óptima al SLA. Para esto, se seleccionaba la estructura subóptima y se obtenía un archivo CT, que luego, con el programa CT2dot, era convertido al formato dot-parenthesis. (11)

INFERNAL:

Este conjunto de programas fue fundamental para el desarrollo de la investigación, ya que todos los programas utilizados se implementaron para facilitar el uso de estas herramientas y para analizar los resultados obtenidos. INFERNAL es un conjunto de programas que utiliza como base los modelos de covarianza(CM), este programa está basado en el paquete HMMER que es utilizado para la búsqueda de proteínas a través de HMM.(12;13) Los programas que se utilizaron fueron:

CMbuild: El programa CMbuild es el encargado de la creación de los CM,

utilizando como input un alineamiento de secuencias múltiples secuencias en formato Stockholm.

CMcalibrate: A través de la creación de secuencias aleatorias obtiene el e-value de un CM este mismo valor es necesario para la búsqueda a través de CMsearch porque se guarda en el CM en puntuación de bits los resultados obtenidos, estos mismos resultados son los que utilizan CMsearch.

CMsearch: Este programa es utilizado para la búsqueda de CM en una base de datos de secuencias, generando una lista de las secuencias que coincidan con el modelo dado como input, estas mismas secuencias no solo son de cadena positiva sino también de cadena negativa.

CMalign: programa que se utiliza para el alineamiento utilizando como base un CM.

BEAGLE WEB:

Utilizando una matriz de sustitución de estructura secundaria y haciendo alineamientos de pares de bases, esta combinación permite ingresar datos de secuencia y estructura y realizar una comparación entre varias secuencias. El alineamiento puede ser global o local y produce como salida el porcentaje similitud estructural, porcentaje similitud de secuencia y un e-value entre otros datos.(14)

Resultados y Discusión:

Se procedió a la identificación y evaluación de herramientas bioinformáticas con capacidad para reconocer motivos estructurales de ARN a partir de un alineamiento múltiple de secuencias y su correspondiente estructura secundaria consenso, con la idea de priorizar el reconocimiento de la conformación estructural sobre la conservación de la secuencia primaria. Tras un análisis exhaustivo de las opciones disponibles, se seleccionó el programa INFERNAL (Infernal: Inference of RNA alignments), debido a que satisface los criterios mencionados. Adicionalmente, su implementación y manejo no presentan una complejidad significativa, y su eficacia ha sido validada en numerosas investigaciones previas enfocadas en la identificación de estructuras en moléculas de ARN. El programa INFERNAL fundamenta su funcionamiento en la utilización de modelos de covarianza (CM). Específicamente, la función cmbuild integrada en INFERNAL permite la construcción de dichos CM a partir de un alineamiento múltiple de secuencias en formato Stockholm. Los componentes fundamentales de un alineamiento en este formato incluyen las secuencias alineadas, la secuencia consenso, la estructura secundaria consenso y, para cada secuencia individual, la anotación de su correspondencia con la estructura consenso.

Considerando las características del archivo de entrada requerido por INFERNAL (formato Stockholm), se procedió a la selección de herramientas complementarias para su generación. Para la obtención del alineamiento múltiple de secuencias, se optó por la herramienta R-Coffee, la cual efectúa alineamientos considerando la información de la estructura secundaria y se encuentra especializada en el manejo de secuencias de ARN de longitud inferior a 200 nucleótidos. Para la determinación de la secuencia consenso y la predicción de la estructura secundaria consenso, se utilizó el paquete de software ViennaRNA Package, específicamente el servidor web RNAalifold. Dicha herramienta, ampliamente empleada en el campo, predice la estructura secundaria consenso de un alineamiento múltiple basándose en modelos de energía mínima y proporciona, asimismo, la secuencia consenso correspondiente.

Durante la etapa de ajuste de parámetros y validación, se decidió eliminar los filtros HMM y relajar el umbral de E-value a 200 con el objetivo de aumentar la sensibilidad de búsqueda, especialmente útil cuando los enfoques iniciales resultaron poco efectivos. Tras la finalización del análisis manual de más de mil secuencias identificadas como potenciales *hits*, se seleccionaron 37 secuencias ubicadas en regiones UTR que exhibieron la mayor relevancia. Estas secuencias mostraron una considerable variabilidad en su similitud estructural con

para detectar homólogos distantes en bases de datos extensas. Esta estrategia, sin embargo, incrementó notablemente la cantidad de hits, incluyendo un elevado número de falsos positivos, lo que hizo necesaria la implementación de un protocolo de validación manual riguroso. Para abordar esta validación, se incorporó el uso de BEAGLE (BEArnamotif GLobal alignment), una herramienta bioinformática diseñada para realizar alineamientos estructurales globales y locales de ARN a partir de la secuencia y su estructura secundaria (en notación dot-bracket). Esta herramienta permite cuantificar la similitud estructural, la similitud de secuencia y el E-value asociado, facilitando así un análisis más objetivo. Se estableció un umbral inicial del 50% de similitud estructural para filtrar los hits relevantes, complementando con comparaciones contra estructuras conocidas como los SLA de Zika y Donggang, lo que aportó un marco de interpretación biológica. Esta fase evidenció la dificultad de equilibrar sensibilidad y especificidad al explorar estructuras conservadas pero variables en genomas complejos.

los elementos SLA de referencia, con valores que oscilaron entre el 50 % y el 98 %. Del total seleccionado, 22 correspondieron a moléculas de ARN de polaridad positiva, mientras que las 15 restantes presentaban polaridad negativa. Esta distribución evidencia no solo la

variabilidad estructural entre las secuencias, sino también la diversidad en su orientación genómica. Posteriormente, se realizó una búsqueda enfocada en ARN no codificantes, donde se identificaron 30 secuencias adicionales: 18 de polaridad positiva y 12 de polaridad negativa.

Tras la conclusión de la investigación de los ARNs humanos, y como análisis complementario, se llevó a cabo una exploración adicional orientada a la búsqueda de estructuras similares al SLA en las regiones UTR de los vectores de transmisión del virus. Al realizar la búsqueda en la base de datos de UTR de *Aedes albopictus*, se identificaron 21 potenciales estructuras, de las cuales 13 corresponden a secuencias de polaridad positiva y 8 a secuencias de polaridad negativa. En el caso de *Aedes aegypti*, se encontraron 9 estructuras con similitud al SLA, de las cuales 6 eran de polaridad positiva y 3 de polaridad negativa. Figura 2, Figura 3 y Figura 4



Figura 2: Proporción de SLA detectados en humanos vs. mosquitos

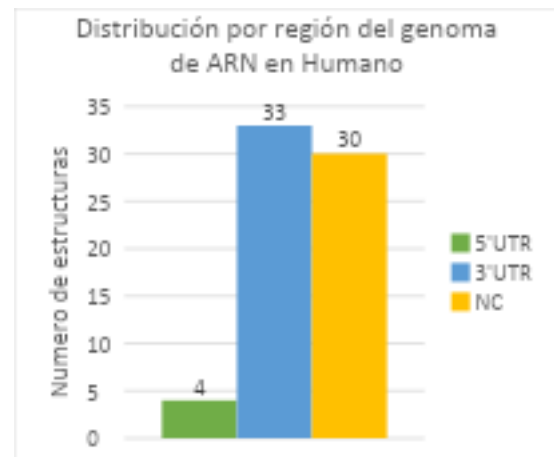


Figura 3: En la barra verde se observa la cantidad de hits en la región 5'UTR, En la barra azul se observa la cantidad de hits en la región 3'UTR y En la barra amarilla se observa la cantidad de hits en ARN no codificantes

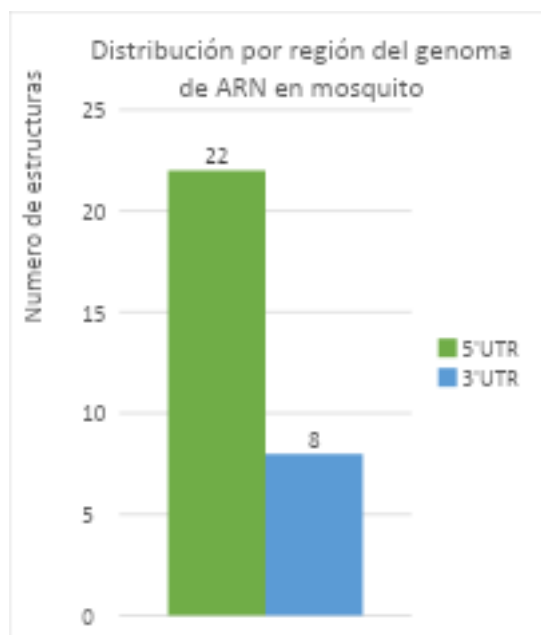


Figura 4: En la barra verde se observa la cantidad de hits en la región 5'UTR, En la barra azul se observa la cantidad de hits en la región 3'UTR

La flexibilidad de la interacción entre la proteína NS5 y el elemento estructural SLA ha sido ampliamente documentada (15). Diversos estudios han demostrado que NS5 es capaz de reconocer estructuras SLA provenientes de otros flavivirus, mediante la utilización de ensayos quiméricos que confirman su capacidad de interacción con elementos heterólogos (16–19). Además, investigaciones recientes han sugerido que NS5 no se limita a interactuar exclusivamente con la estructura SLA presente en la hebra de polaridad positiva del ARN viral, sino que también podría

Conclusión

En consonancia con los objetivos iniciales de esta investigación, se logró identificar estructuras secundarias en las regiones

reconocer estructuras análogas en la hebra de polaridad negativa. En particular, se ha identificado una estructura secundaria denominada SLA' en el extremo 3' del ARN de cadena negativa, la cual presenta una arquitectura similar al SLA localizado en la región 5' UTR de la hebra positiva, y ha demostrado capacidad de unión a NS5 en ensayos in vitro. Aunque esta interacción se produce con una afinidad menor respecto al SLA canónico, aporta evidencia funcional de que NS5 puede reconocer motivos estructurales conservados en ambas hebras del genoma viral. Dado que la región 3' UTR de la hebra negativa es complementaria a la región 5' UTR de la hebra positiva, se ha planteado la hipótesis de que podrían existir elementos SLA funcionales también en la cadena negativa. Por ello, en los resultados de este estudio se incluyeron los hits correspondientes a secuencias de polaridad negativa identificados en nuestras búsquedas (20, 21). En conjunto, esta evidencia, sumada al hallazgo de múltiples estructuras similares al SLA en diversas secuencias analizadas, refuerza la hipótesis de que NS5 podría interactuar con una variedad de ARN que compartan características estructurales con el SLA viral.

no traducidas (UTR) de ARN mensajeros (ARNm) humanos que presentan similitud conformacional con el elemento stem-loop

A (SLA) viral, lo que permite postularlas como potenciales sitios de unión para la proteína no estructural 5 (NS5) de flavivirus. De manera complementaria, se llevó a cabo la búsqueda de estructuras análogas al SLA en las regiones UTR de los mosquitos vectores *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, así como en diferentes ARN no codificantes humanos, con el propósito de explorar posibles mecanismos conservados de interacción entre el ARN y proteínas virales tanto en hospedadores como en vectores involucrados en el ciclo de vida del virus.

Todos estos hallazgos abren la puerta a múltiples análisis posteriores y nuevas líneas de investigación orientadas a validar experimentalmente, tanto *in vitro* como *in vivo*, las hipótesis planteadas en el presente estudio. En particular, podrían diseñarse ensayos funcionales que evalúen la interacción entre NS5 y las estructuras SLA candidatas mediante técnicas como EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay) o RIP-seq (*RNA Immunoprecipitation sequencing*)

Bibliografía:

1. Rice, C. M. (1996). Flaviviridae: The viruses and their replication. En B. N. Fields (Ed.), *Virology* (Vol. 1, pp. 931–960). Lippincott-Raven.
2. Robert, M. A., Tinunin, D. T., Benitez, E. M., Ludueña-Almeida, F. F., Romero, M., Stewart-Ibarra, A. M., & Estallo, E. L. (2019). Arbovirus emergence in the temperate city of Córdoba, Argentina, 2009–2018. *Scientific Data*, 6(1), 276. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0295-z>
3. Estallo, E. L., López, M. S., Ludueña-Almeida, F., Madelón, M. I., Layún, F., & Robert, M. A. (2024). Increased risks of mosquito-borne disease emergence in temperate regions of South America. *The Lancet Regional Health – Americas*, 40, 100946. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100946>
4. Lee, E., Bujalowski, P. J., Teramoto, T., Gottipati, K., Scott, S. D., Padmanabhan, R., & Choi, K. H. (2021). Structures of flavivirus RNA promoters suggest two binding modes with NS5 polymerase. *Nature Communications*, 12(1), 2530. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22846-1>
5. Choi, K. H. (2021). The role of the stem-loop A RNA promoter in flavivirus replication. *Viruses*, 13(6), 1107. <https://doi.org/10.3390/v13061107>
6. Lodeiro, M. F., Filomatori, C. V., & Gamarnik, A. V. (2009). Structural and functional studies of the promoter element for dengue virus RNA replication. *Journal of Virology*, 83(2), 993–1008. <https://doi.org/10.1128/JVI.01647-08>
7. Lim, S. P., Noble, C. G., & Shi, P.-Y. (2015). The dengue virus NS5 protein as a target for drug discovery. *Antiviral Research*, 119, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.04.010>
8. Lo Giudice, C., Zambelli, F., Chiara, M., Pavesi, G., Tangaro, M. A., Picardi, E., & Pesole, G. (2023). UTRdb 2.0: A comprehensive, expert curated catalog of eukaryotic mRNAs untranslated regions. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D337–D344. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1016>
9. Wilm, A., Higgins, D. G., & Notredame, C. (2008). R-Coffee: A method for multiple alignment of

- non-coding RNA. *Nucleic Acids Research*, 36(9), e52.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkn174>
10. Gruber, A. R., Bernhart, S. H., & Lorenz, R. (2015). The ViennaRNA web services. En *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1269, pp. 307–326). Humana Press.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2291-8_19
11. Bellaousov, S., Reuter, J. S., Seetin, M. G., & Mathews, D. H. (2013). RNAstructure: Web servers for RNA secondary structure prediction and analysis. *Nucleic Acids Research*, 41(W1), W471–W474.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt290>
12. INFERNAL User's Guide. (s. f.). *Sequence analysis using profiles of RNA sequence and secondary structure consensus*.
13. Nawrocki, E. P., & Eddy, S. R. (2013). Infernal 1.1: 100-fold faster RNA homology searches. *Bioinformatics*, 29(22), 2933–2935.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt509>
14. Mattei, E., Pietrosanto, M., Ferrè, F., & Helmer-Citterich, M. (2015). Web-Beagle: A web server for the alignment of RNA secondary structures. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W493–W497.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv489>
15. Filomatori, C. V., Iglesias, N. G., Villordo, S. M., Alvarez, D. E., & Gamarnik, A. V. (2011). RNA sequences and structures required for the recruitment and activity of the dengue virus polymerase. *Journal of Biological Chemistry*, 286(9), 6929–6939.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.162289>
16. Zhang, Y., Liang, D., Yuan, F., Yan, Y., Wang, Z., Liu, P., Yu, Q., Zhang, X., Wang, X., & Zheng, A. (2022). Replication is the key barrier during the dual-host adaptation of mosquito-borne flaviviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(12), e2110491119.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2110491119>
17. Tangudu, C. S., Hargett, A. M., & Blitvich, B. J. (2022). Evidence that untranslated genomic sequences are key determinants of insect-specific flavivirus host restriction. *Virology*, 574, 102–114.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2022.07.013>
18. Bujalowski, P. J., Bujalowski, W., & Choi, K. H. (2017). Interactions between the dengue virus polymerase NS5 and stem-loop A. *Journal of Virology*, 91(11),

e00047-17.

<https://doi.org/10.1128/JVI.00047-1>

7

19. Lodeiro, M. F., Filomatori, C. V., & Gamarnik, A. V. (2009). Structural and functional studies of the promoter element for dengue virus RNA replication. *Journal of Virology*, 83(2), 993–1008. <https://doi.org/10.1128/JVI.01647-0>

8

20. Lee, E., Bujalowski, P. J., Teramoto, T., Gottipati, K., Scott, S. D., Padmanabhan, R., & Choi, K. H. (2021). Structures of flavivirus RNA promoters suggest two binding modes with NS5 polymerase. *Nature Communications*, 12(1), 2530. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22846-1>

21. Abram, Q. H., Matthews, L. A., Guarné, A., & Sagan, S. M. (2025). Structural and functional characterization of the SLA' structure at the 3' terminus of the Zika virus negative-strand intermediate. *RNA*. Advance online publication.

<https://doi.org/10.1261/rna.080342>.

124

39.- Salud Humana

Cetamina prejudica o desempenho de camundongos machos no teste de reconhecimento de objeto novo e reduz a imunorreatividade do GAD₆₇ no hipocampo: papel da pioglitazona

Autor: Rodrigues, Talita; tali_rodrigues@msn.com

Co-autor(es): Bressan, Getúlio Nicola; Juliani, Patrícia Zorzi; da Silva, Maria Eduarda
Brandli; Stefano, Jardel Machado

Orientadora: Fachinetto, Roselei; roselei.fachinetto@ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria / Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas:
Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde

Resumo

A esquizofrenia é caracterizada por sintomas positivos, negativos e cognitivos. Os antipsicóticos são utilizados no tratamento, no entanto, estes apresentam muitos efeitos adversos; e alguns sintomas da esquizofrenia, como os cognitivos, apresentam baixa responsividade. Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR- γ) são expressos em neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo, participando na modulação do comportamento mediado pela dopamina. Neste estudo, investigamos os efeitos da pioglitazona, um agonista do PPAR- γ , nas alterações comportamentais induzidas pela cetamina; e se alterações na atividade da monoamina oxidase (MAO) e imunorreatividades da ácido glutâmico descarboxilase (GAD₆₇), do PPAR- γ ou da tirosina hidroxilase (TH) em tecidos cerebrais, estão envolvidas nesses efeitos. Camundongos machos receberam, por via intraperitoneal, cetamina (30mg/kg) por 14 dias consecutivos; e pioglitazona (3 ou 9 mg/kg), por gavagem, durante 7 dias após o sétimo dia da administração de cetamina. A cetamina diminuiu o hábito de roer as unhas, aumentou o tempo de exploração no centro do campo aberto no dia 8 e o número de levantadas avaliados 30 minutos após sua administração no dia 14. Além disso, a cetamina diminuiu a porcentagem de interação no teste de reconhecimento de novo objeto (NORT) e a imunorreatividade de GAD₆₇ no hipocampo. A pioglitazona atenuou os efeitos da cetamina no número de levantadas e na imunorreatividade de GAD₆₇ no hipocampo. A pioglitazona, em ambas as doses, recuperou os sintomas cognitivos induzidos pela cetamina, um efeito que parece envolver a modulação da imunorreatividade do GAD₆₇ no hipocampo. Em conclusão, este trabalho sugere um possível efeito benéfico da pioglitazona sobre sintomas cognitivos da esquizofrenia.

Palavras chave: interação social, estereotipia, teste de reconhecimento de objeto novo

Introdução

A esquizofrenia é caracterizada por sintomas positivos, negativos e cognitivos, afetando cerca de 1% da população (Mendelson and Eaton, 2018; Owen et al., 2016; Pedersen et al., 2014). Entretanto, sua patofisiologia não está completamente elucidada (Anticevic et al., 2015). Os antipsicóticos são utilizados no tratamento, apesar de serem associados a efeitos adversos motores e metabólicos, além da baixa responsividade na melhora de sintomas cognitivos.

A pioglitazona é uma tiazolidinediona que atua como agonista altamente seletivo de receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- γ) (Kapadia, 2008; Zingarelli et al., 2003). O PPAR- γ foi detectado em várias regiões do cérebro (Ciccocioppo e Ubaldi, 2021; Moreno et al., 2004), em especial, no mesencéfalo e na amígdala, onde aparece expresso em ~70% nos neurônios dopaminérgicos e ~60% nos GABAérgicos. Este receptor está por trás de efeitos modulatórios em comportamentos mediados por dopamina em camundongos (Hempel et al., 2023). A ativação do PPAR γ está envolvida na regulação de processos inflamatórios, que atuam na patogênese da esquizofrenia (Haroon et al., 2012; Hempel et al., 2023; Müller, 2018; Najjar et al., 2013; Sethi et al., 2019; Tilleux and Hermans, 2007).

A cetamina é um antagonista não competitivo NMDA, usado na pesquisa

experimental para reproduzir alterações comportamentais que se assemelham aos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia (Ben-Azu et al., 2018b; Ceretta et al., 2016; Figueira et al., 2015; Jones et al., 2011; Krum et al., 2021; Robinson and Becker, 1986).

Objetivos

Avaliar os efeitos da pioglitazona em um modelo de alterações comportamentais induzidas por cetamina, mimetizando sintomas da esquizofrenia. Ademais, investigar se alterações na atividade da MAO e imunorreatividades de GAD₆₇, PPAR- γ ou TH em tecidos cerebrais podem estar envolvidas nos efeitos da cetamina ou pioglitazona.

Materiais e métodos

Pioglitazona em pó foi comprada em uma farmácia de manipulação e a cetamina de uma clínica veterinária local.

Sessenta e oito camundongos machos (2 meses de idade, pesando 25-35g) foram obtidos do biotério central da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), mantidos em caixas com temperatura controlada (22 ± 2 °C) e com ciclos de dia/noite de 12h. Comida e água foram fornecidas à vontade. Todos os experimentos foram feitos de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso

de Animais (CEUA), protocolo CEUA 4721190619.

Depois de 7 dias de aclimação, os animais foram divididos em 8 grupos: veículo (0.9 % NaCl, $n = 8$), pioglitazona 3 mg (3 mg/kg, $n = 8$), pioglitazona 9 mg (9 mg/kg, $n = 8$), cetamina (30 mg/kg, $n = 8$; inicialmente 9, um faleceu durante o experimento), cetamina + pioglitazona 3 mg (3 mg/kg, $n = 9$), cetamina + pioglitazona 9 mg (9 mg/kg, $n = 9$). A cetamina e o seu veículo foram administradas intraperitonealmente do dia 1 ao 14 em um volume de 10mL/kg enquanto a pioglitazona e seu veículo foram administradas por gavagem por 7 dias após a 7ª administração de cetamina (do dia 8 ao 14 do experimento). Testes comportamentais realizados: atividade locomotora (dias 8 e 15), comportamento estereotipado (auto-lavagem, roer de unhas, dias 8 e 15), labirinto em Y (dias 8 e 15), reconhecimento de objeto novo (dia 15) e interação social (dia 15). Depois de terminado o experimento, os animais foram eutanasiados. Imediatamente após a eutanásia, uma amostra de sangue foi tirada para estimar os níveis de glicose. Partes do cérebro (córtex, estriado e hipocampo) foram logo separados e guardados a -80°C até as análises *ex vivo*.

A atividade locomotora foi medida no teste de campo aberto nos dias 8 e 15. Os camundongos foram posicionados no centro de uma caixa de campo aberto (44

x 44 x 44 cm) dividida em 16 partes e o número de cruzadas, erguidas em duas patas (rearings), o tempo no centro e na periferia foram quantificados durante 5 minutos sem tempo de habituação (Krum et al., 2021; Reinheimer et al., 2020). No dia 14 foi feita uma avaliação 30 minutos após a dosagem de cetamina para avaliar a resposta aguda ao medicamento.

Em relação ao comportamento estereotipado, os animais foram posicionados em caixas de vidro (20 x 20 x 19cm) com espelhos abaixo da base para a observação e filmagem. O número de episódios e o tempo da limpeza (grooming) do nariz e orelha (orofacial), da limpeza do corpo e do roer as unhas foram quantificados durante 6 minutos (Ceretta et al., 2016; Figueira et al., 2015; Juliani et al., 2024; Machado et al., 2006).

Para testar a interação social, foi usada uma caixa de acrílico transparente (60 x 40 cm) dividida em 3 compartimentos (6 x 6 cm) interligados. Um camundongo ficava 5 min explorando e depois colocou-se outro camundongo. E o tempo de socialização foi medido. O índice de sociabilização foi o IPS (index social preference) (Juliani et al., 2024; Rein et al., 2020)

O teste do labirinto em Y foi utilizado para avaliar a cognição, como um índice de memória de trabalho espacial (Anisman, 1975; Ben-Azu et al., 2018c) através de um aparelho com 3 braços (A, B, C) a 120° . O animal foi colocado no meio de um dos

braços e o número de braços visitados e a sequência foi medido por 5 min.

O teste de reconhecimento de objeto novo (NORT, do inglês New Object Recognition Test) consiste em duas fases. Na primeira (14 d) o animal é treinado em uma caixa com dois objetos idênticos (A e B) e na segunda (15 d) é medido o tempo de interação com um objeto novo (C) e um antigo (A).

A atividade da MAO no córtex e estriado foi medida utilizando quinuramina como substrato em um método fluorimétrico (Juliani et al., 2024; Reinheimer et al., 2020; Soto-Otero et al., 2001). Primeiramente, as amostras foram homogeneizadas com tampão fosfato (pH 7,4) e a quantidade de proteína foi medida (Lowry et al., 1951). As atividades da MAO-A e MAO-B foram medidas usando 250 nM pargilina (inibidor da MAO-B) ou 250 nM clorgilina (seletivo MAO-A). Então, a mistura foi pré-incubada por 20 min a 37° C. Depois, quinuramina (60 µM) foi adicionada à mistura e houve outra incubação de 30 min a 37° C. Ácido tricloroacético 10% foi utilizado para parar a reação e as amostras foram centrifugadas. Uma amostra do sobrenadante foi misturada com 1 M NaOH em proporção 1:1 para estimar a atividade da MAO. O produto da reação foi medido em espectrofluorímetro e os resultados calculados em 4-hidróxi-quinolinol (4-HQ)

nmol/mg de proteína/min e expressos em porcentagem do controle.

A imunorreatividade de GAD₆₇, PPAR-γ e TH foi determinada por western blot (de Freitas et al., 2018; de Freitas et al., 2016; Reinheimer et al., 2020). Amostras de córtex (GAD₆₇, PPAR-γ), hipocampo (GAD₆₇, PPAR-γ) e estriado (GAD₆₇, TH) foram homogeneizadas em tampão de lise contendo SDS, EDTA, Tris, Na₂VO₃, aprotinina, benzamidina e PMSF. Após fervura por 4 min e centrifugação, a quantidade de proteína foi medida no sobrenadante (Lowry et al., 1951). Em seguida, 30 µg de proteína foram separados por SDS-PAGE (10%) e transferidos para membranas de PVDF. O marcador BenchMark™ foi utilizado como padrão de peso molecular e o corante Ponceau serviu como controle de carregamento (Romero-Calvo et al., 2010). As membranas foram bloqueadas com leite desnatado (10%) e incubadas à noite com os anticorpos primários anti-GAD₆₇ (1:10.000), anti-TH (1:10.000) ou anti-PPAR-γ (1:100). Posteriormente, foram lavadas e incubadas com anticorpos secundários conjugados à fosfatase alcalina. A revelação foi realizada por meio do substrato BCIP/NBT (Ceretta et al., 2018; de Freitas et al., 2018; Reinheimer et al., 2020), e as bandas foram digitalizadas e quantificadas no software ImageJ. Os resultados foram expressos em densidade óptica relativa (ROD).

A quantidade de proteína nas amostras foi determinada, como descrito por Lowry et al. (1951) usando albumina sérica bovina como padrão. Uma alíquota de cada amostra ou da albumina sérica bovina foi misturada com 1 mL de reagente contendo (mistura de reagente A- 0,1 M NaOH e 2% Na_2CO_3 , e reagente B- 1% CuSO_4 e 2% $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ – na proporção de 49:1) e 100 μL de reagente de Folin-Ciocalteu (2N), e a reação foi mantida a 25 °C por 30 minutos. O produto da reação foi determinado espectrofotometricamente.

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão ($\pm$ SEM). A comparação entre grupos no dia 8 foi realizada pelo teste t de Student não pareado. Nos dias 14 e 15, utilizou-se análise de variância de duas vias (two-way ANOVA) para avaliar os efeitos da cetamina, da pioglitazona e a interação entre ambos os tratamentos. As análises foram conduzidas, com o uso do Prisma versão 6. Primeiramente os grupos controle – pioglitazona 3 mg/kg – cetamina – cetamina + pioglitazona 3 mg/kg e depois os grupos controle – pioglitazona 9 mg/kg – cetamina – cetamina + pioglitazona 9 mg/kg. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Valores de F foram apresentados somente quando $p < 0,05$. Os dados identificados como outliers por meio de teste específico foram excluídos das análises.

Resultados

A atividade locomotora e exploratória no teste de campo aberto foi avaliada nos dias 8 e 15, após 24h de administração das drogas e no dia 14, 30 minutos após a administração. Nos dias 8 e 15, não houve mudanças significativas. Entretanto, no dia 14, a cetamina reduziu significativamente o número de rearings, efeito que sofreu interação com a administração de pioglitazona (3 e 9 mg/kg) ($p < 0,05$). Em relação ao tempo de permanência no centro do campo aberto, os animais tratados com cetamina permaneceram menos tempo na periferia e mais tempo no centro no dia 8 ($p < 0,05$). Esse resultado foi mantido no dia 15, quando a ANOVA revelou efeito significativo da cetamina sobre esses parâmetros, com interação significativa para a dose de 3 mg/kg de pioglitazona (figura 1, $p < 0,05$).

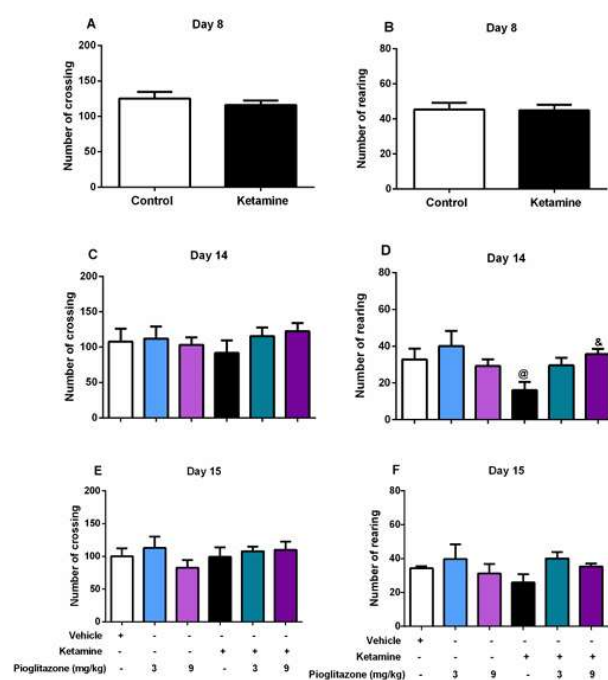


Figura 1. Efeitos da cetamina e pioglitazona no teste de campo aberto.

No comportamento estereotipado, foi analisado o número de episódios e suas durações considerando os parâmetros: limpeza orofacial, do corpo e roer as unhas. No dia 8 houve redução significativa ($p < 0,05$) no número de episódios e suas durações no roer as unhas causados pelo tratamento com cetamina, comparado com o grupo controle. Nenhum efeito significativo foi atestado no comportamento estereotipado no dia 15 (figura 2).

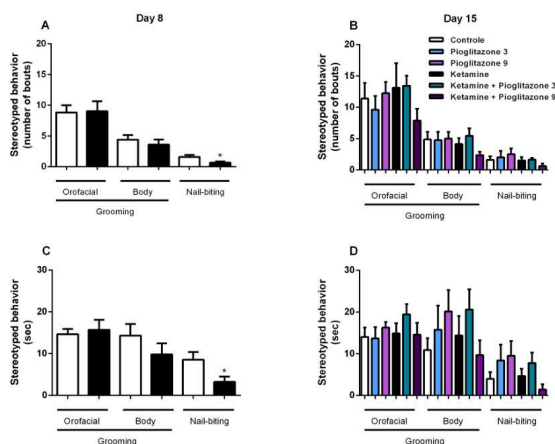


Figura 2. Efeitos da cetamina e pioglitazona no comportamento estereotipado.

Nenhum efeito significativo foi encontrado no teste de interação social.

Nenhum efeito significativo foi encontrado no teste do labirinto em Y.

No teste de reconhecimento de objeto novo, a cetamina diminuiu o tempo que os animais exploravam o objeto novo em comparação com o grupo controle e

pioglitazona somente ($p < 0,05$). Esse efeito foi revertido pelo tratamento com pioglitazona (figura 3).

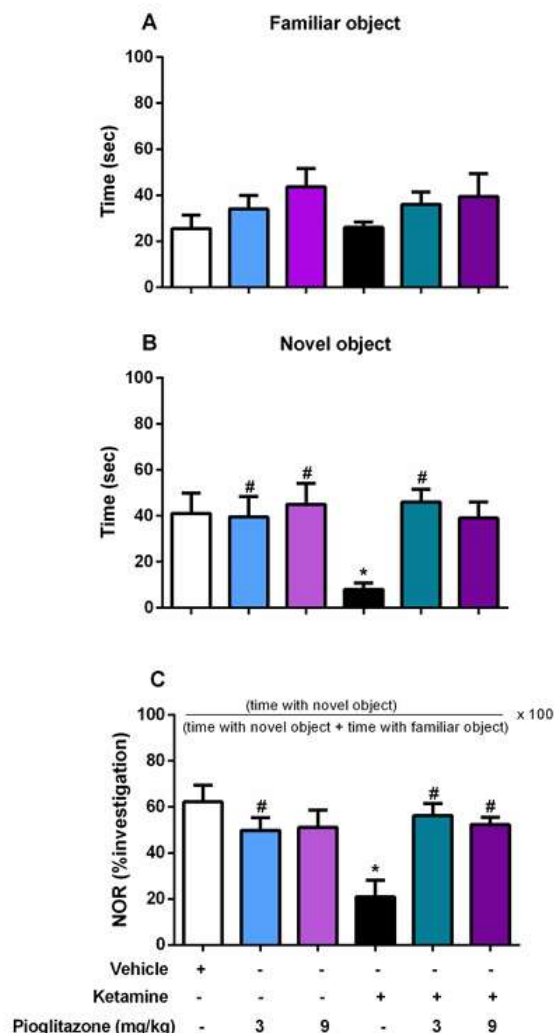


Figura 3. Efeito da cetamina e pioglitazona teste de objeto novo.

Já que a pioglitazona é um fármaco antidiabético, os níveis de glicose foram medidos no dia 15 do experimento. Houve um efeito significativo da cetamina com 3mg/kg de pioglitazona bem como uma interação na análise com 9mg/kg. Entretanto, essas diferenças não foram confirmadas pelo teste post-hoc.

Em relação à atividade da MAO no córtex e no estriado, não foram achadas mudanças na atividade da MAO no córtex e da MAO-A no estriado. No entanto, houve interação significativa entre cetamina e pioglitazona 9 mg/kg na atividade da MAO-B no estriado ($p < 0,05$).

Não houve mudanças significativas na imunorreatividade de PPAR- γ e GAD₆₇ no córtex nem GAD₆₇ e TH no estriado dos camundongos tratados com cetamina e pioglitazona. No hipocampo, houve efeito significativo da cetamina na imunorreatividade de GAD₆₇ ($p < 0,05$) e interação significativa entre cetamina e pioglitazona ($p < 0,05$). A análise post-hoc revelou diferença significativa entre os grupos tratados com pioglitazona 9mg/kg somente e cetamina comparados ao controle. Sem alterações no PPAR- γ . (Figura 4).

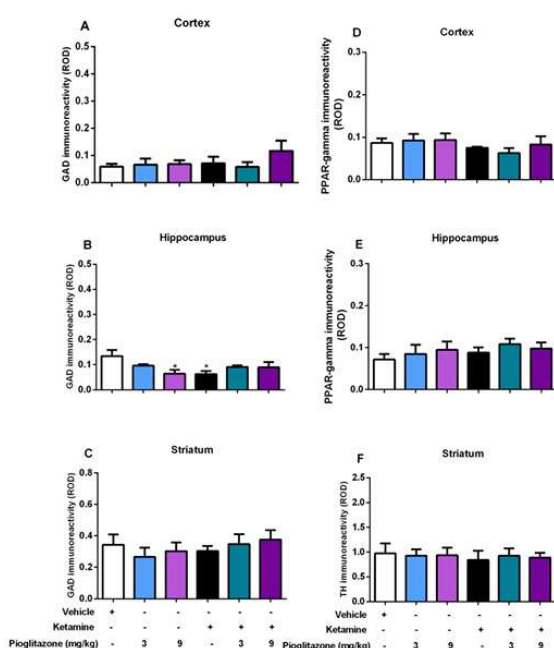


Figura 4. Efeito da cetamina e/ou pioglitazona na imunorreatividade de

GAD₆₇, PPAR- γ e TH nas estruturas cerebrais no dia 15.

Discussão

De acordo com os achados, a cetamina diminuiu a performance dos camundongos no teste de reconhecimento de objeto novo, um efeito recuperado pela pioglitazona. Ademais, a cetamina diminuiu a imunorreatividade de GAD₆₇ similarmente à pioglitazona 9mg/kg. O tratamento conjunto com pioglitazona, nas duas doses, atenuou o efeito da cetamina na imunorreatividade de GAD₆₇. Considerando os resultados do estudo, a pioglitazona mostrou efeitos benéficos em sintomas cognitivos induzidos por cetamina, o que parece envolver a modulação da imunorreatividade de GAD₆₇ no hipocampo.

Antagonistas não competitivos de receptores NMDA, como a cetamina, pode induzir sintomas psicóticos em humanos saudáveis e exacerbar sintomas em pacientes esquizofrênicos (Anticevic et al., 2015; Jentsch, 1999; Lahti et al., 2001; Lee e Zhou, 2019; Tamminga et al., 1995). A hipofunção ou bloqueio de receptores NMDA está associada com a hiperatividade da via dopaminérgica mesolímbica e a hipofunção das vias mesocorticais que podem levar a sintomas negativos e cognitivos, respectivamente, tanto em humanos quanto em modelos

animais (Jones et al., 2011; Lodge and Mercier, 2015; Moghaddam and Javitt, 2011; Stahl, 2018).

A pioglitazona é um agonista altamente seletivo de PPARs- γ (Kapadia, 2008; Zingarelli et al., 2003). Sua eficácia em condições envolvendo o sistema dopaminérgico já foi demonstrado (De Guglielmo et al., 2014; Hunter and Bing, 2007; Schmitz et al., 2017), o que está associado à ativação de PPAR- γ . PPAR- γ foi detectado em várias regiões do cérebro (Ciccocioppo and Ubaldi, 2021; Moreno et al., 2004), incluindo o mesencéfalo onde os receptores de PPAR- γ são expressos em ~70 % dos neurônios dopaminérgicos exercendo efeitos modulatórios em comportamento mediado por dopamina em camundongos (Hempel et al., 2023). A ativação de PPAR- γ também está associada à prevenção da progressão de processos inflamatórios (Heneka and Landreth, 2007; Kapadia, 2008). O presente estudo usou um modelo de alterações comportamentais induzidas por cetamina (usado como modelo para sintomas tipo esquizofrenia), um antagonista não competitivo de receptores NMDA, principalmente para estudar sintomas cognitivos que são mais bem reproduzidos nesse modelo (Jones et al., 2011; Lodge and Mercier, 2015). Sintomas cognitivos estão comumente presente em pacientes com esquizofrenia devido à hipofunção da via dopaminérgica

mesocortical (Moghaddam and Javitt, 2011; Stahl, 2018) e antipsicóticos apresentam baixa eficácia nesses sintomas, sendo os atípicos considerados mais efetivos (McCutcheon et al., 2023). Pioglitazona melhorou perdas cognitivas em modelos experimentais atribuindo-se aos seus efeitos modulatórios em processos inflamatórios (Alhowail et al., 2022; Eissa Ahmed et al., 2009; Rosa et al., 2008). Entretanto, o efeito da pioglitazona em sintomas tipo esquizofrenia induzidos por cetamina ainda não foi investigado. Então, produzimos diferentes testes comportamentais para avaliar os sintomas tipo esquizofrenia nesse modelo.

Um efeito significativo da cetamina no número de rearings foi observado no teste de campo aberto. Antes, nós demonstramos uma redução no número de rearings somente quando os animais foram tratados com cetamina 40mg/kg, sem efeitos significativos em doses menores (Rodrigues et al., 2023). Então, a escolha da dose de cetamina (30mg/kg) foi usada também para evitar interferência na atividade exploratória que pode causar má interpretação no NORT. Apesar de outros autores terem demonstrado uma redução no comportamento de rearing no teste de campo aberto na dose de 10mg/kg (Moghaddam et al., 2023) ou 50 mg/kg (Rao et al., 2012), nós só observamos uma redução significativa agudamente (30 minutos após administração de cetamina)

e a pioglitazona (9mg/kg) atenuou esse efeito.

Previamente, nós demonstramos um aumento do tempo de limpeza na região do nariz depois de 14 dias do tratamento com cetamina (Rodrigues et al., 2023). Entretanto, no presente estudo, observamos grande variabilidade nos diferentes grupos em relação a esse comportamento, sem efeitos significativos.

Nós encontramos uma redução no roer as unhas promovida pelo tratamento com cetamina nos camundongos. O ato de roer unhas pode ser indicativo de ansiedade ou estresse (Mackay, 2023; Tanaka et al., 2008), a cetamina pode estar atuando como ansiolítico já que é usada para tratar ansiedade refratária (Tully et al., 2022). Os efeitos da cetamina para tratar ansiedade refratária são considerados temporários e diminuíram após duas semanas de tratamento (Tully et al., 2022) o que está de acordo com os nossos dados, que demonstram redução no roer as unhas somente no dia 8, sem efeitos significativos no dia 15. Para investigar se isso está associado a efeitos ansiolíticos, nós avaliamos o tempo que os animais ficavam no centro do campo aberto, que está associado com efeitos ansiolíticos. De acordo, os animais tratados com cetamina ficaram mais tempo no centro do campo aberto, reduzindo o tempo na periferia no dia 8, sem efeitos no dia 15.

É reconhecido que a cetamina produz sintomas semelhantes aos negativos e cognitivos na esquizofrenia (Cheng et al., 2018; Jones et al., 2011; Krystal, 1994; Lodge e Mercier, 2015; Xu et al., 2015) Enquanto modelos que usam agonistas dopaminérgicos são mais adequados para estudar sintomas positivos (Ceretta et al., 2016; Figueira et al., 2015; Krum et al., 2021; Robinson and Becker, 1986). Em nosso estudo pregresso, a cetamina na dose de 30mg/kg aumentou o tempo de imobilidade no teste de nado forçado em camundongos (Rodrigues et al., 2023), usado para avaliar sintomas semelhantes à depressão que lembram sintomas negativos da esquizofrenia (Chatterjee et al., 2012a; Chindo et al., 2012; Iqbal and Mathew, 2020; Moghaddam et al., 2023; Noda et al., 1995; Weston et al., 2021; Woźniak et al., 2018; Yankelevitch-Yahav et al., 2015). No estudo presente, nós usamos o teste de interação social para avaliar sintomas negativos já que não expõe o animal a condições que sua performance é importante para obter sua sobrevivência. Em um modelo experimental de autismo, ratos melhoraram sua interação social após o tratamento com pioglitazona (0,25 e 1,0 mg/kg/dia) (Kirsten et al., 2018). Além de que uma redução no comportamento social induzida por cetamina foi reportada por outros autores (Becker et al., 2003; Becker and Grecksch, 2004; Ben-Azu et al.,

2018b), no estudo presente, não foram encontrados efeitos significativos tanto para a cetamina quanto para a pioglitazona.

Sobre os sintomas semelhantes aos cognitivos, foi usado o teste do labirinto em Y (como indicativo de memória espacial) e o NORT (como indicativo de memória não-espacial) (Denninger et al., 2018; Rein et al., 2020). Em humanos, um estudo com usuários crônicos de cetamina revelou que eles tiveram déficits na memória espacial, além de redução da ativação do hipocampo, assim gerando deficiência no processo de reter informação (Morgan et al., 2014). A cetamina e a pioglitazona não afetaram significativamente a performance dos animais no teste do labirinto em Y. Entretanto, no NORT, uma redução significativa no percentual de investigação do objeto novo foi observada em animais tratados com cetamina, comparados ao grupo controle. A pioglitazona recuperou esse efeito nas duas doses. Os resultados dos efeitos da pioglitazona na memória são contraditórios, enquanto alguns estudos apontam efeitos benéficos (Seok et al., 2019), a pioglitazona não recuperou a memória espacial em um modelo de Doença de Alzheimer (DA) (Nicolakakis et al., 2008) e, em humanos, um estudo recente demonstrou risco aumentado de DA em pacientes com Diabetes Melito tipo 2 recebendo insulina e pioglitazona (Lin et al., 2023). Aqui, efeitos positivos da

pioglitazona foram observados na memória não-espacial. Esse efeito pode ser investigado em tratamentos crônicos já que em nosso estudo a pioglitazona foi administrada por somente 7 dias.

A hipótese da hipofunção dos receptores NMDA na esquizofrenia foi estudada considerando antagonistas não competitivos NMDA, como a cetamina, produzindo efeitos psicóticos em humanos (Marques et al., 2020; Stahl, 2018). A hipofunção de receptores NMDA encontrada em interneurônios GABA está também associada com mudança no GAD₆₇ e, consequentemente, alterações na síntese de GABA. Essas mudanças estão associadas com uma hiperfunção na via dopaminérgica mesolímbica e hipofunção na via mesocortical (Marques et al., 2020; Stahl, 2018). Em um estudo pregresso, nós observamos correlações significativas entre GAD₆₇ (enzima reguladora da síntese de GABA) e TH (enzima regulatória a síntese de dopamina) com manifestações comportamentais; entretanto, dependendo da dose de cetamina utilizada (Rodrigues et al., 2023). No presente estudo, a cetamina reduziu a GAD₆₇ no hipocampo dos camundongos, efeito que também foi observado com pioglitazona sozinha na dose de 9mg/kg. O cotratamento com pioglitazona nas duas doses atenuou o decréscimo na imunorreatividade de GAD₆₇ no hipocampo o que pode estar relacionado com os

efeitos da pioglitazona no PPAR- γ já que esses receptores estão expressos nos neurônios do hipocampo e podem modular a neurotransmissão GABAérgica (Ciccocioppo and Ubaldi, 2021). Nenhuma mudança foi vista para a imunorreatividade de GAD₆₇ (no córtex e estriado) e TH (no estriado). Sobre a atividade da MAO, somente uma redução na atividade da MAO-B foi encontrada no grupo cotratado com cetamina/pioglitazona comparado ao grupo cetamina. Apesar dos efeitos *in vitro* da cetamina parcialmente inibindo a MAO-A e fracamente a MAO-B (L'upták et al., 2022), efeitos modulatórios na atividade da MAO em estruturas cerebrais foram encontrados usando uma dose aguda de 100mg/kg sem nenhuma mudança quando a mesma dose foi administrada durante 10 dias de tratamento (Chatterjee et al., 2012b). A pioglitazona também demonstrou efeitos modulatórios na atividade da MAO-B (Finberg and Rabey, 2016; Geldenhuys et al., 2010; Oertel and Schulz, 2016; Quinn et al., 2008). Portanto, sugerimos que o efeito observado no presente estudo na atividade da MAO-B pode ser devido a um efeito combinado da cetamina/pioglitazona.

O papel do PPAR- γ não está bem estabelecido na esquizofrenia. Previamente, nós demonstramos uma correlação negativa da imunorreatividade de PPAR- γ no hipocampo em camundongos tratados com cetamina na

dose de 40mg/kg e o número de episódios do comportamento estereotipado sem mudanças nos níveis de imunorreatividade dessa proteína (Rodrigues et al., 2023). No estudo presente, nenhuma mudança foi detectada na imunorreatividade de PPAR- γ no córtex e no hipocampo de camundongos.

Algumas limitações do estudo: 1) foi conduzido somente em camundongos machos, o que desconsidera possíveis diferenças relacionadas ao sexo e 2) no NORT, nenhuma diferença significativa foi detectada comparando a atividade exploratória no objeto familiar e no novo no grupo controle, o que pode ser uma consequência do alto número de testes comportamentais utilizando os mesmos animais.

Conclusão

A cetamina prejudicou a cognição de camundongos machos avaliada no teste de reconhecimento de objeto novo (NORT) e diminuiu a imunorreatividade de GAD₆₇. Esses efeitos foram melhorados pelo tratamento agudo com pioglitazona, um agonista PPAR- γ . Tratamentos farmacológicos que agem como agonistas PPAR- γ podem ser melhor investigados como potencial alvo de tratamento para déficits cognitivos na esquizofrenia.

Bibliografia

Alhowail, A., Alsikhan, R., Alsaud, M., & Rabbani, S. I. (2022). Protective effects of

pioglitazone on cognitive impairment and the underlying mechanisms: a review of literature. *Drug Design, Development and Therapy*, 16, 2919–2931. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S367229>.

Anisman, H. (1975). Differential effects of scopolamine and d-amphetamine on avoidance: strain interactions. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 3(5), 809–817. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(75\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(75)90111-2).

Anticevic, A., Corlett, P. R., Cole, M. W., Savic, A., Gancsos, M., Tang, Y., ... Krystal, J. H. (2015). N-methyl-D-aspartate receptor antagonist effects on prefrontal cortical connectivity better model early than chronic schizophrenia. *Biological Psychiatry*, 77(6), 569–580. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.07.022>.

Becker, A., & Grecksch, G. (2004). Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. Test of predictive validity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28(7), 1267–1277. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.06.019>.

Becker, A., Peters, B., Schroeder, H., Mann, T., Huether, G., & Grecksch, G. (2003). Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological*

Psychiatry, 27(4), 687–700. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00080-0](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00080-0).

Ben-Azu, B., Aderibigbe, A. O., Omogbiya, I. A., Ajayi, A. M., & Iwalewa, E. O. (2018). Morin pretreatment attenuates schizophrenia-like behaviors in experimental animal models. *Drug Research*, 68(3), 159–167. <https://doi.org/10.1055/S-0043-119127>.

Ben-Azu, B., Aderibigbe, A. O., Omogbiya, I. A., Ajayi, A. M., Owofe, O., Olonode, E. T., & Iwalewa, E. O. (2018). Probable mechanisms involved in the antipsychotic-like activity of morin in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 1079–1090. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.057>.

Ceretta, A. P. C., de Freitas, C. M., Schaffer, L. F., Reinheimer, J. B., Dotto, M. M., & Fachineto, R. (2016). Gabapentin prevents behavioral changes on the amphetamine-induced animal model of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 175(1–3), 230–231. <https://doi.org/10.1016/J.SCHRES.2016.04.044>.

Ceretta, A. P. C., de Freitas, C. M., Schaffer, L. F., Reinheimer, J. B., Dotto, M. M., de Moraes Reis, E., ... Fachineto, R. (2018). Gabapentin reduces haloperidol-induced vacuous chewing movements in mice. *Pharmacology, Biochemistry and*

Behavior, 166, 21–26.

<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.01.003>.

Chatterjee, M., Jaiswal, M., & Palit, G. (2012). Comparative evaluation of forced swim test and tail suspension test as models of negative symptom of schizophrenia in rodents. *ISRN Psychiatry*, 2012, 1–5.

<https://doi.org/10.5402/2012/595141>.

Chatterjee, M., Verma, R., Ganguly, S., & Palit, G. (2012). Neurochemical and molecular characterization of ketamine-induced experimental psychosis model in mice. *Neuropharmacology*, 63(7), 1161–1171.

<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.05.041>.

Cheng, W.-J., Chen, C.-H., Chen, C.-K., Huang, M.-C., Pietrzak, R. H., Krystal, J. H., & Xu, K. (2018). Similar psychotic and cognitive profile between ketamine dependence with persistent psychosis and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 199, 313–318.

<https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.02.049>.

Chindo, B. A., Adzu, B., Yahaya, T. A., & Gamaniel, K. S. (2012). Ketamine-enhanced immobility in forced swim test: a possible animal model for the negative symptoms of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 38(2), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.04.018>.

Ciccocioppo, R., & Ubaldi, M. (2021). Nuclear peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPAR γ) as a therapeutic target to treat neurodegeneration and dependence elicited by drugs of abuse. *Neural Regeneration Research*, 16(5), 984–985. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.297072>.

De Freitas, C. M., Busanello, A., Schaffer, L. F., Peroza, L. R., Krum, B. N., Leal, C. Q., ... Fachinetto, R. (2016). Behavioral and neurochemical effects induced by reserpine in mice. *Psychopharmacology*, 233(3), 457–467. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4118-4>.

de Freitas, C. M., Krum, B. N., Chiapinotto Ceretta, A. P., Schaffer, L. F., de Moraes Reis, E., Schwerz, J. P., ... Fachinetto, R. (2018). Silymarin recovers 6-hydroxydopamine-induced motor deficits in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 549–556. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.062>.

De Guglielmo, G., Melis, M., De Luca, M. A., Kallupi, M., Li, H. W., Niswender, K., ... Ciccocioppo, R. (2015). PPAR γ activation attenuates opioid consumption and modulates mesolimbic dopamine transmission. *Neuropsychopharmacology*, 40(4), 927–937. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.268>.

Denninger, J. K., Smith, B. M., & Kirby, E. D. (2018). Novel object recognition and object location behavioral testing in mice on

a budget. *Journal of Visualized Experiments*, (141), e58593. <https://doi.org/10.3791/58593>.

Eissa Ahmed, A. A., Al-Rasheed, N. M., & Al-Rasheed, N. M. (2009). Antidepressant-like effects of rosiglitazone, a PPAR γ agonist, in the rat forced swim and mouse tail suspension tests. *Behavioural Pharmacology*, 20(8), 635–642. <https://doi.org/10.1097/FBP.0B013E328331B9BF>.

Figueira, F. H., Leal, C. Q., de Moraes Reis, E., Röpke, J., Wagner, C., da Rocha, J. B. T., & Fachinetto, R. (2015). Effects of diphenyl diselenide on behavioral and biochemical changes induced by amphetamine in mice. *Journal of Neural Transmission*, 122(2), 201–209. <https://doi.org/10.1007/S00702-014-1257-4>.

Finberg, J. P. M., & Rabey, J. M. (2016). Inhibitors of MAO-A and MAO-B in psychiatry and neurology. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00340>.

Geldenhuys, W. J., Darvesh, A. S., Funk, M. O., Van der Schyf, C. J., & Carroll, R. T. (2010). Identification of novel monoamine oxidase B inhibitors by structure-based virtual screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(17), 5295–5298. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.06.128>.

Haroon, E., Raison, C. L., & Miller, A. H. (2012). Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 137. <https://doi.org/10.1038/NPP.2011.205>.

Hempel, B., Crissman, M., Pari, S., Klein, B., Bi, G. H., Alton, H., ... Xi, Z. X. (2023). PPAR α and PPAR γ are expressed in midbrain dopamine neurons and modulate dopamine- and cannabinoid-mediated behavior in mice. *Molecular Psychiatry*, 28(10), 4203–4214. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02182-0>.

Heneka, M. T., & Landreth, G. E. (2007). PPARs in the brain. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771(8), 1031–1045. <https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2007.04.016>.

Hunter, R. L., & Bing, G. (2007). Agonism of peroxisome proliferator receptor-gamma may have therapeutic potential for neuroinflammation and Parkinsons disease. *Current Neuropsychopharmacology*, 5(1), 35–46. <https://doi.org/10.2174/157015907780077123>.

Iqbal, S. Z., & Mathew, S. J. (2020). Ketamine for depression clinical issues. *Advances in Pharmacology*, 89, 131–162. <https://doi.org/10.1016/BS.APHA.2020.02.005>.

- Jentsch, J. (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 20(3), 201–225. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00060-8](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00060-8).
- Jones, C., Watson, D., & Fone, K. (2011). Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*, 164(4), 1162–1194. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2011.01386.X>.
- Juliani, P. Z., Rodrigues, T., Bressan, G. N., Camponogara, C., Oliveira, S. M., Brucker, N., & Fachinetto, R. (2024). Effects of association between resveratrol and ketamine on behavioral and biochemical analysis in mice. *Journal of Neural Transmission*, 131(7), 803–818. <https://doi.org/10.1007/S00702-024-02793-Z>.
- Kapadia, R. (2008). Mechanisms of anti-inflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. *Frontiers in Bioscience*, 13(6), 1813. <https://doi.org/10.2741/2802>.
- Kirsten, T. B., Casarin, R. C., Bernardi, M. M., & Felicio, L. F. (2018). Pioglitazone abolishes autistic-like behaviors via the IL-6 pathway. *PLoS One*, 13(5), e0197060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197060>.
- Krum, B. N., Molz de Freitas, C., Chiapinotto Ceretta, A. P., Barbosa, C. P., de Moraes Reis, E., Scussel, R., ... Fachinetto, R. (2021). Kava decreases the stereotyped behavior induced by amphetamine in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113293. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2020.113293>.
- Krystal, J. H. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. *Archives of General Psychiatry*, 51(3), 199. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950030035004>.
- Lahti, A. C., Weiler, M. A., Michaelidis, T., Parwani, A., & Tamminga, C. A. (2001). Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 25(4), 455–467. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00243-3](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00243-3).
- Lee, G., & Zhou, Y. (2019). NMDAR hypofunction animal models of schizophrenia. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 185. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00185>.
- Lin, H. C., Chung, C. H., Chen, L. C., Wang, J. Y., Chen, C. C., Huang, K. Y., ... Lin, H. A. (2023). Pioglitazone use increases risk of Alzheimer's disease in patients with type 2 diabetes receiving insulin. *Scientific Reports*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33674-2>.

- Lodge, D., & Mercier, M. S. (2015). Ketamine and phencyclidine: the good, the bad and the unexpected. *British Journal of Pharmacology*, 172(18), 4254–4276. <https://doi.org/10.1111/BPH.13222>.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).
- L'upták, M., Fišar, Z., & Hroudová, J. (2022). Agomelatine, ketamine and vortioxetine attenuate energy cell metabolism—in vitro study. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13824. <https://doi.org/10.3390/ijms232213824>.
- Machado, M. S., Rosa, R. M., Dantas, A. S., Reolon, G. K., Appelt, H. R., Braga, A. L., ... Roesler, R. (2006). An organic selenium compound attenuates apomorphine-induced stereotypy in mice. *Neuroscience Letters*, 410(3), 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.09.079>.
- Mackay, C. E. (2023). Trichotillomania: a perspective synthesised from neuroscience and lived experience. *BMJ Mental Health*, 26(1), e300795. <https://doi.org/10.1136/bmjment-2023-300795>.
- Marques, T. R., Ashok, A. H., Angelescu, I., Borgan, F., Myers, J., Lingford-Hughes, A., ... Howes, O. D. (2021). GABA-A receptor differences in schizophrenia: a positron emission tomography study using [11C] Ro15-4513. *Molecular Psychiatry*, 26(6), 2616–2625. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0711-y>.
- McCutcheon, R. A., Keefe, R. S. E., & McGuire, P. K. (2023). Cognitive impairment in schizophrenia: aetiology, pathophysiology, and treatment. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/S41380-023-01949-9>.
- Mendelson, T., & Eaton, W. W. (2018). Recent advances in the prevention of mental disorders. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 53(4), 325–339. <https://doi.org/10.1007/s00127-018-1501-6>.
- Moghaddam, A. H., Parhizgar, M., Jelodar, S. K., Eslami, A., & Sayrafi, R. (2023). Nano-hesperetin attenuates ketamine-induced schizophrenia-like symptoms in mice: participation of antioxidant parameters. *Psychopharmacology*, 240(6), 1063–1074. <https://doi.org/10.1007/S00213-023-06344-4>.
- Moghaddam, B., & Javitt, D. (2012). From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 4–15. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.181>.

- Moreno, S., Farioli-vecchioli, S., & Cerù, M. P. (2004). Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid x receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*, 123(1), 131–145. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENC E.2003.08.064>.
- Morgan, C. J. A., Dodds, C. M., Furby, H., Pepper, F., Fam, J., Freeman, T. P., ... Stone, J. M. (2014). Long-term heavy ketamine use is associated with spatial memory impairment and altered hippocampal activation. *Frontiers in Psychiatry*, 5, 149. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00149>.
- Müller, N. (2018). Inflammation in schizophrenia: pathogenetic aspects and therapeutic considerations. *Schizophrenia Bulletin*, 44(5), 973–982. <https://doi.org/10.1093/SCHBUL/SBY024>.
- Najjar, S., Pearlman, D. M., Alper, K., Najjar, A., & Devinsky, O. (2013). Neuroinflammation and psychiatric illness. *Journal of Neuroinflammation*, 10(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-43>.
- Nicolakakis, N., Aboukassim, T., Ongali, B., Lecrux, C., Fernandes, P., Rosa-Neto, P., ... Hamel, E. (2008). Complete rescue of cerebrovascular function in aged Alzheimer's disease transgenic mice by antioxidants and pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist. *Journal of Neuroscience*, 28(36), 9287–9296. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3348-08.2008>.
- Noda, Y., Yamada, K., Furukawa, H., & Nabeshima, T. (1995). Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencyclidine: a new model of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology*, 116(5), 2531–2537. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.1995.TB15106.X>.
- Oertel, W., & Schulz, J. B. (2016). Current and experimental treatments of Parkinson disease: a guide for neuroscientists. *Journal of Neurochemistry*, 139(Suppl 1), 325–337. <https://doi.org/10.1111/JNC.13750>.
- Owen, M. J., Sawa, A., & Mortensen, P. B. (2016). Schizophrenia. *The Lancet*, 388(10039), 86–97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01121-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01121-6).
- Pedersen, C. B., Mors, O., Bertelsen, A., Lindum Waltoft, B., Agerbo, E., McGrath, J. J., ... Eaton, W. (2014). A comprehensive nationwide study of the incidence rate and lifetime risk for treated mental disorders. *JAMA Psychiatry*, 71(5), 573–581. <https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATR Y.2014.16>.
- Quinn, L. P., Crook, B., Hows, M. E., Vidgeon-Hart, M., Chapman, H., Upton, N., & Virley, D. J. (2008). The PPAR γ agonist pioglitazone is effective in the MPTP mouse model of Parkinson's disease through

inhibition of monoamine oxidase B. *British Journal of Pharmacology*, 154(1), 226–233. <https://doi.org/10.1038/BJP.2008.78>.

Rao, V. S., Carvalho, A. C., Trevisan, M. T. S., Andrade, G. M., Nobre, H. V., Moraes, M. O., ... Santos, F. A. (2012). Mangiferin ameliorates 6-hydroxy dopamine-induced cytotoxicity and oxidative stress in ketamine model of schizophrenia. *Pharmacological Reports*, 64(4), 848–856. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70879-4](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70879-4).

Rein, B., Ma, K., & Yan, Z. (2020). A standardized social preference protocol for measuring social deficits in mouse models of autism. *Nature Protocols*, 15(10), 3464–3477. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0382-9>.

Reinheimer, J. B., Bressan, G. N., de Freitas, C. M., Ceretta, A. P. C., Krum, B. N., Nogara, P. A., ... Fachinetto, R. (2020). Effects of catechin on reserpine-induced vacuolar chewing movements: behavioral and biochemical analysis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(10), 1845–1855. <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01923-0>.

Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research Reviews*, 11(2), 157–198.

[https://doi.org/10.1016/0165-0173\(86\)90002-0](https://doi.org/10.1016/0165-0173(86)90002-0).

Rodrigues, T., Bressan, G. N., Krum, B. N., Soares, F. A. A., & Fachinetto, R. (2023). Influence of the dose of ketamine used on schizophrenia-like symptoms in mice: a correlation study with TH, GAD67, and PPAR-γ. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 233, 173658. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2023.173658>.

Romero-Calvo, I., Ocón, B., Martínez-Moya, P., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martínez-Augustin, O., & de Medina, F. S. (2010). Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. *Analytical Biochemistry*, 401(2), 318–320. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.02.036>.

Rosa, A. O., Kaster, M. P., Binfaré, R. W., Morales, S., Martín-Aparicio, E., Navarro-Rico, M. L., ... Rodrigues, A. L. S. (2008). Antidepressant-like effect of the novel thiadiazolidinone NP031115 in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32(6), 1549–1556. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2008.05.020>.

Schmitz, J. M., Green, C. E., Hasan, K. M., Vincent, J., Suchting, R., Weaver, M. F., ... Lane, S. D. (2017). PPAR-gamma agonist pioglitazone modifies craving intensity and brain white matter integrity in patients with primary cocaine use disorder: a double-blind randomized controlled pilot

trial. *Addiction*, 112(10), 1861–1868.
<https://doi.org/10.1111/ADD.13868>.

Seok, H., Lee, M., Shin, E., Yun, M. R., Lee, Y. H., Moon, J. H., ... Cha, B. S. (2019). Low-dose pioglitazone can ameliorate learning and memory impairment in a mouse model of dementia by increasing LRP1 expression in the hippocampus. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40736-x>.

Sethi, R., Gómez-Coronado, N., Walker, A. J., Robertson, O. D., Agustini, B., Berk, M., & Dodd, S. (2019). Neurobiology and therapeutic potential of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors for inflammation in neuropsychiatric disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 10, 605. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2019.00605>.

Soto-Otero, R., Méndez-Álvarez, E., Hermida-Ameijeiras, Á., Sánchez-Sellero, I., Cruz-Landeira, A., & Lamas, M. L.-R. (2001). Inhibition of brain monoamine oxidase activity by the generation of hydroxyl radicals potential implications in relation to oxidative stress. *Life Sciences*, 69(7), 879–889. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01178-X](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01178-X).

Stahl, S. M. (2018). Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: dopamine, serotonin, and glutamate. *CNS Spectrums*, 23(3), 187–191.

<https://doi.org/10.1017/S10928529180001013>.

Tamminga, C. A., Holcomb, H. H., Gao, X. M., & Lahti, A. C. (1995). Glutamate pharmacology and the treatment of schizophrenia: current status and future directions. *International Clinical Psychopharmacology*, 10(Suppl 3), 29–37. <https://doi.org/10.1097/00004850-199503003-00005>.

Tanaka, O. M., Vitral, R. W. F., Tanaka, G. Y., Guerrero, A. P., & Camargo, E. S. (2008). Nailbiting, or onychophagia: a special habit. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 134(2), 305–308. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2006.06.023>.

Tilleux, S., & Hermans, E. (2007). Neuroinflammation and regulation of glial glutamate uptake in neurological disorders. *Journal of Neuroscience Research*, 85(10), 2059–2070. <https://doi.org/10.1002/JNR.21325>.

Tully, J. L., Dahlén, A. D., Haggarty, C. J., Schiöth, H. B., & Brooks, S. (2022). Ketamine treatment for refractory anxiety: a systematic review. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88(10), 4412–4426. <https://doi.org/10.1111/bcp.15374>.

Weston, R. G., Fitzgerald, P. J., & Watson, B. O. (2021). Repeated dosing of ketamine in the forced swim test: are multiple shots better than one? *Frontiers in*

Psychiatry, 12, 659052.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.659052>.

Wozniak, M., Cieslik, P., Marciniak, M., Lenda, T., Pilc, A., & Wieronska, J. M. (2018). Neurochemical changes underlying schizophrenia-related behavior in a modified forced swim test in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 172, 50–58.
<https://doi.org/10.1016/J.PBB.2018.06.003>

Xu, K., Krystal, J. H., Ning, Y., Chen, D. C., He, H., Wang, D., ... Fan, N. (2015). Preliminary analysis of positive and negative syndrome scale in ketamine-associated psychosis in comparison with schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, 61, 64–72.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.12.012>.

Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like

behavior. *Journal of Visualized Experiments*, (97), e52587.
<https://doi.org/10.3791/52587>.

Zingarelli, B., Sheehan, M., Hake, P. W., O'Connor, M., Denenberg, A., & Cook, J. A. (2003). Peroxisome proliferator activator receptor- γ ligands, 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2 and ciglitazone, reduce systemic inflammation in polymicrobial sepsis by modulation of signal transduction pathways. *Journal of Immunology*, 171(12), 6827–6837.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.12.6827>.

Financiamento

Esse estudo foi financiado pela FAPERGS (PqG - 19/2551-0001962-9- 1). Nós também reconhecemos associação do CNPq (R.F., Grant #309128/ 2021-8), CAPES (T.R., G.N.B. e P.Z.J.), e PIBIC-CNPq (M.E.B.S.).

38.- Atención primaria de la salud

Situación epidemiológica del VIH/SIDA en Paraguay. Periodo 2022 – 2023

Autora: Servin Torres, Mauren Arami Mercedes, mamservin@medicina.uni.edu.py

Co-autoras: Cañete Ruiz Diaz, Violeta Concepción, vvccañete@medicina.uni.edu.py;

Herebia Mascareño, Thania Amambay, taherebia@medicina.uni.edu.py; Larssen Gabrunski,

Yudy Noelia, ynlarssen@medicina.uni.edu.py.

Orientador: Martínez, Juan María; jmaritnez@medicina.uni.edu.py

Universidad Nacional de Itapúa / Facultad de Medicina

Resumen

El VIH/SIDA representa un problema de salud pública por su alta incidencia y mortalidad. Afecta principalmente a adultos jóvenes y poblaciones clave. El objetivo del presente estudio fue determinar la situación epidemiológica del VIH/SIDA en Paraguay durante el periodo 2022-2023. Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal, con muestreo no probabilístico de casos consecutivos registrados en el Programa Nacional de Control del VIH/SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual (PRONASIDA). Se incluyeron 3.170 casos nuevos, de los cuales el 38% ya se encontraba en estadio de SIDA. Los grupos etarios más afectados fueron los de 20 a 29 años y 30 a 39 años. El 73,75% de los nuevos casos correspondió al sexo masculino. Además, el 57,53% de los diagnósticos se notificaron en el departamento Central. Entre la población masculina, el 48,97% correspondía a hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y el 48,75% a la población general. En contraste, dentro de la población femenina, el 98,55% pertenecía a la población general. Se registraron 203 fallecimientos por VIH/SIDA, de los cuales el 81% correspondió al sexo masculino. La infección por VIH/SIDA en Paraguay afecta principalmente a hombres jóvenes, especialmente HSH, con alta concentración geográfica en el departamento Central. Conocer la realidad epidemiológica del país permite implementar medidas adecuadas para controlar la situación, ya que la prevención primaria y el diagnóstico precoz son fundamentales para reducir la incidencia de infecciones de transmisión sexual, mejorar el acceso al tratamiento y la calidad de vida de los pacientes.

Palabras clave: VIH/SIDA, epidemiología, Paraguay.

Introducción

Antecedentes

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) compromete al sistema inmunológico al atacar los glóbulos blancos, principalmente a los linfocitos T CD4, favoreciendo la aparición de infecciones, como tuberculosis, y algunos tipos de cáncer. En ausencia de tratamiento, la infección puede progresar hasta al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), que constituye el estadio más avanzado de la enfermedad.

La transmisión del VIH ocurre mediante el contacto con fluidos corporales de personas infectadas, como sangre, semen, secreciones vaginales y leche materna; también puede ocurrir transmisión transplacentaria y durante el parto. No se transmite mediante abrazos, besos o uso compartido de utensilios o alimentos.

El tratamiento antirretroviral (TAR) permite controlar la replicación del virus y dificultar la progresión a SIDA. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS,2023), se considera que una persona tiene enfermedad avanzada por VIH cuando presenta un recuento de linfocitos CD4 inferior a 200 células por milímetro cúbico o se encuentra en estadio clínico 3 o 4. En el caso de niños menores de cinco años, toda infección por VIH se clasifica como avanzada.

A finales del año 2021, el Programa Conjunto de la Naciones Unidas sobre el

VIH/SIDA (ONUSIDA) estimaba que aproximadamente 38,4 (33,9 – 43,8) millones de personas vivían con el VIH a nivel mundial, de las cuales cerca de 25,6 millones se encontraban en África. En ese mismo año fallecieron alrededor de 650.000 (510.000 – 860.000) personas por esta causa, y hubo 1,5 millones (1,1 – 2,0 millones) de nuevas infecciones (ONUSIDA, 2022).

En la región de las Américas, entre 2010 y 2021, según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) se reportaron aproximadamente 110.000 nuevas infecciones por VIH, un incremento del 4,7% respecto a la cantidad de casos cuantificados anteriormente. En conjunto, los hombres homosexuales y otros hombres que tienen sexo con hombres (HSH), mujeres transgénero (TRANS) y mujeres trabajadoras sexuales (MTS) representaron más de la mitad de las nuevas infecciones. En 2021, se estimó que 2,5 millones de personas vivían con VIH en la región; de ellas, el 18 % desconocía su diagnóstico y cerca de un tercio fue diagnosticado en etapa avanzada. La mortalidad por VIH disminuyó en la región, pasando de 40.000 casos en 2010 a 29.000 en 20213 (OPS, 2022).

Los hombres que tiene sexo con hombres, mujeres trabajadoras sexuales, mujeres transgénero y personas que usan drogas (UD), son poblaciones clave frente

al VIH. Estas poblaciones y sus parejas sexuales son el mayor contribuyente a nuevas infecciones de VIH representando el 62 % a nivel mundial, el 98% Europa Occidental y Norteamérica y 77% América Latina (ONUSIDA, 2022).

De 2007 a junio de 2020 en Brasil se notificaron 342.459 casos de nuevas infecciones por VIH, de los cuales 237.551 (69,4%) eran en hombres y 104.824 (30,6%) a mujeres. Se verificó que, entre los hombres, 51,6% de los casos fueron por exposición homosexual o bisexual, y entre mujeres, el 86,6% se contagiaron en relaciones heterosexuales. La relación entre los sexos ha cambiado a lo largo de los años. Entre 2002 y 2009, la relación era de 15 hombres por cada 10 mujeres; a partir de 2010 se evidenció un aumento progresivo, alcanzando una proporción de 23 hombres por cada 10 mujeres en 2017, relación que se mantuvo hasta 2019. Para el año 2020, esta diferencia continuó ampliándose, estableciéndose en 26 hombres por cada 10 mujeres (Ministério da Saúde, 2021).

Según los datos disponibles, en Chile se reportaron 5.401 nuevos casos confirmados de VIH en el año 2022. Entre 2010 y 2022, el total acumulado de casos nuevos asciende a 61.226 casos confirmados. La mayoría de casos nuevos correspondientes a diagnósticos hechos en el año 2022, en el grupo etario de 20 a 34 años, siendo los hombres quienes

representaron la mayoría de nuevas infecciones (Ministerio de Salud de Chile, 2023).

En Colombia, hasta la semana epidemiológica 47 del año 2022, se notificaron 17.271 nuevos casos confirmados de infección por VIH. El 80,8 % de los casos correspondió a hombres, siendo el grupo etario más afectado el de 25 a 34 años (37,6 %), seguido por el de 15 a 24 años (23,5 %) y 35 a 44 años (18,7 %). El 98,5 % de los casos fue atribuido a transmisión sexual, mientras que el 0,6 % se relacionó con el uso de drogas intravenosas y el 0,3 % a la transmisión materno-infantil. En cuanto al estadio clínico al momento del diagnóstico, el 92,9 % de los casos fue notificado en fase VIH, el 5,7 % en fase sida y el 1,4 % al momento del fallecimiento (Instituto Nacional de Salud de Colombia, 2022).

En Argentina, se estima que aproximadamente 140.800 personas viven con VIH, de las cuales un 13% desconoce su diagnóstico. Entre 2018 y 2022, se notificaron en promedio 5.300 nuevos casos por año, siendo más del 98% de las infecciones atribuibles a relaciones sexuales sin protección. La epidemia se concentra en poblaciones clave como mujeres trans, HSH y trabajadores sexuales. El 44,5% de los diagnósticos se dieron en etapa tardía, ya sea fase SIDA o fase sintomática sin criterios de SIDA. En el año 2020, Argentina reportó un total de

1.139 muertes asociadas al sida, lo que equivale a una tasa de 2,51 fallecimientos por cada 100.000 habitantes. De ese total, 374 defunciones correspondieron a mujeres (33 %), 753 a varones (66 %), y en 12 casos no se especificó el sexo de la persona fallecida (Ministerio de Salud de Argentina, 2022).

En España, durante el año 2022 se registraron un total de 464.417 defunciones. De ellas, 303 muertes estuvieron relacionadas con el VIH y el sida, lo que representa una proporción de 0,7 por cada 1.000 fallecimientos. De los casos notificados, el 79,2 % correspondió a hombres (240 casos) y el 20,8 % a mujeres (63 casos). La tasa de mortalidad general atribuida al VIH/sida fue de 0,6 por cada 100.000 habitantes (Instituto Nacional de Estadística de España, 2023).

Desde el inicio de la epidemia en nuestro país en el año 1985, hasta el año 2020 estaban registradas un total de 23.732 personas con diagnóstico de VIH, de los cuales 6.728 estaban categorizadas como sida. En el año 2021 se registraron 1.318 nuevos diagnósticos de VIH, de los cuales 239 fueron categorizadas como sida (Programa Nacional de Control de VIH/SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual [PRONASIDA], 2021).

Justificación

Debido a que requieren una estructura sólida y coordinada del sistema de salud

nacional, la prevención y el control de las enfermedades crónicas transmisibles, incluyendo la infección por VIH, son un desafío para cada nación. La tendencia de los casos analiza la capacidad y el funcionamiento de los servicios de salud, así como la oportunidad de la toma de decisiones, y tiene relevancia política y de salud pública. Para detectar, investigar y monitorear de manera oportuna la enfermedad y los factores que la afectan, es necesario un fortalecimiento permanente de la red de vigilancia epidemiológica.

Pregunta de investigación

¿Cuál es la situación epidemiológica del SIDA en Paraguay, durante el periodo 2022 – 2023?

I. Objetivos

Objetivo General

- Determinar la situación epidemiológica del VIH/SIDA en Paraguay, durante el periodo 2022 – 2023.

●

Objetivos Específicos

- Conocer los casos de SIDA en Paraguay.
- Caracterizar las condiciones sociodemográficas de los pacientes con VIH/SIDA
- Describir el número de fallecimientos por SIDA según el sexo de los pacientes.

Materiales y Métodos

Diseño metodológico/tipo de estudio:

Estudio observacional, descriptivo, de corte transversal.

Descripción del lugar de la investigación

República del Paraguay

Población enfocada

Pacientes que hayan sido diagnosticados con VIH/SIDA en la República del Paraguay, durante el período 2022 – 2023

Población accesible

Pacientes de ambos sexos, que forman parte del Programa Nacional de Control del SIDA/ITS de la República del Paraguay, durante el 2022 – 2023.

Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

Variables de interés

- Casos de SIDA.
- Características sociodemográficas
- Fallecimientos por SIDA

Operacionalización de variables

Variable.	Definición conceptual	Tipo	Indicador	Valor
Casos de SIDA	Casos de VIH que presentaron un recuento de CD4<200 células/mm3 al momento del diagnóstico	Cuantitativa discontinua	Número de casos nuevos de VIH en estadio SIDA (CD4<200)	Números enteros
Características sociodemográficas	Cualidades y atributos que describen la estructura social y demográfica de una población.	Cuantitativa discontinua	Edad	Números enteros
		Cualitativa nominal dicotómica	Sexo	Femenino /masculino
		Cualitativa ordinal	Procedencia	Alto Paraguay, Alto Paraná, Amambay, Boquerón, Caaguazú, Caazapá, Canindeyú, Central, Concepción, Guairá, Itapúa, Cordillera, Misiones, Neembucú, Paraguari, Presidente Hayes y San Pedro
		Cualitativa ordinal	Tipo de población	Mujer Trabajadora Sexual Utilizador/a de Droga Población general Hombre que tiene sexo con hombre Trans
Mortalidad	Muerte sucedida dentro de una población	Cuantitativa discontinua	Muerte dentro de la población	Números enteros

Reclutamiento

Posterior a la aprobación del trabajo por los docentes de la cátedra de Salud Pública y los comités de ética y científico de la FM-UNI, se procedió a la búsqueda de datos epidemiológicos que se encuentran en la página web del Programa Nacional de Control del VIH/SIDA e Infecciones de Transmisión Sexual de la República del Paraguay (PRONASIDA). Disponible en <https://www.mspbs.gov.py/pronasida/informes-varios.html>

Cuestiones estadísticas

- Tamaño de muestra: no aplica

- Gestión de datos: para los componentes descriptivos y gráficos se utilizó el programa Excel 2016.

Cuestiones éticas

Se trabajó con datos epidemiológicos secundarios disponibles en la página web del PRONASIDA.

Declaración de Helsinki: El bienestar de los sujetos se antepuso a los intereses de la ciencia y de la sociedad. Puesto a que el presente trabajo se realizó a partir de datos epidemiológicos disponibles en la página web del PRONASIDA, esto no implicó una invasión física ni moral del ser humano, siendo el mismo siempre respetado.

Principios Bioéticos:

- Justicia: no se cometió ningún acto de injusticia.
- Beneficencia: Los resultados se darán a conocer para que la comunidad académica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Itapúa se beneficie con los conocimientos
- actualizados adquiridos a partir del mismo.
- No maleficencia: Las autoras se abstuvieron de poner en riesgo a los participantes de esta investigación.

Principios individuales formulados por la UNESCO:

- Confidencialidad: Se mantuvo la privacidad de los participantes con la precaución de no revelar identidades en la investigación.

- Proporcionalidad: La investigación no implicó riesgo alguno para los participantes y contemplarán los lineamientos éticos.

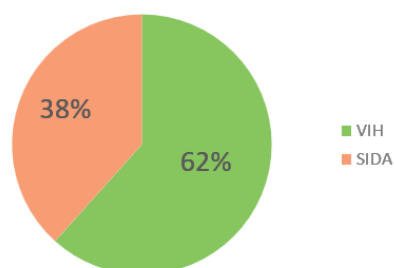
Principios sociales formulados por la UNESCO:

- Aprovechamiento de los beneficios: Los resultados de la investigación serán compartidos con los representantes y autoridades de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Itapúa para la utilización del mismo para posteriores investigaciones y conocimiento de la situación actual.

Conflictos de intereses: Más allá de los intereses manifiestos por el cumplimiento de los requisitos de la cátedra de Salud Pública, las autoras indican no tener conflictos de intereses

Resultados y Discusión

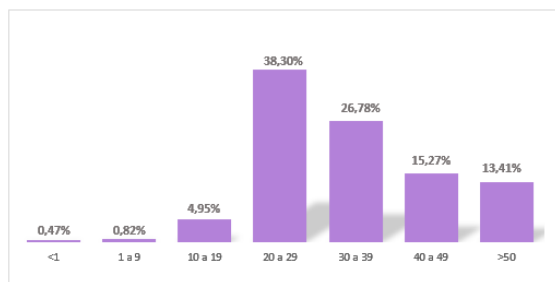
Para el presente estudio, se incluyeron a 3170 participantes que cumplieron con los requisitos de inclusión del mismo.



Fuente: Programa Nacional de Control de SIDA/ITS, Paraguay

Gráfico 1. Distribución de nuevos diagnósticos de VIH según corte de CD4. Paraguay 2022 – 2023 (N=2676)

El 38% (n:1026) presentó diagnóstico SIDA. (ver gráfico 1).



Fuente: Programa Nacional de Control de SIDA/ITS, Paraguay

Gráfico 2. Distribución de los pacientes según edad con infección por VIH/SIDA. Paraguay 2022 – 2023 (N=3170)

En cuanto a las características sociodemográfica, el 38,30% (n: 1214) de la población con diagnóstico de VIH/SIDA tiene entre 20 a 29 años de edad. (Gráfico 2)

Tabla 1. Procedencia de los pacientes con infección por VIH/SIDA. Paraguay 2022 – 2023 (N=3170)

Departamento	Frecuencia absoluta	Población	Tasa por 100.000 hab.
Central	1824	1.883.927	96,82
Alto Paraná	361	763.702	47,26
Caaguazú	134	431.519	31,06
Itapúa	131	449.642	29,14
Concepción	127	206.181	61,61
Amambay	114	179.412	63,57
Cordillera	81	268.037	30,22
Misiones	66	111.142	59,39
Guairá	51	179.555	28,41
San Pedro	59	355.175	16,61
Paraguarí	57	200.472	28,44
Canindeyú	56	191.114	29,3
Presidente Hayes	38	123.313	30,81
Boquerón	28	71.078	39,38
Neembucú	23	76.719	29,97
Caazapá	16	139.479	11,47
Alto Paraguay	4	17.195	23,26
Total	3170	6.109.903	

Fuente: Programa Nacional de Control de SIDA/ITS y del Instituto Nacional de Estadísticas (INE) del Paraguay.

En cuanto a la procedencia, el 57,53% (n:1824) procedía del departamento de Central. Seguido por el 11,39% (n: 361) que provienen de Alto Paraná. (Tabla 1).

Tabla 2. Distribución de casos de VIH/SIDA según sexo y tipo de población. Paraguay, 2022- 2023 (N = 3170)

Categoría	Frecuencia	Porcentaje
Sexo		
Femenino	832	27%
Masculino	2338	73%
Tipo de población masculina		
TRANS	41	1,75%
UD	12	0,51%
HSH	1145	48,97%
PG	1140	48,75%
Tipo de población femenina		
MTS	8	0,96%
UD	4	0,48%
PG	820	98,55%

Fuente: Programa Nacional de Control de SIDA/ITS. Paraguay

El 73,75% (n: 2338) de los mismos fueron del sexo masculino. Según el tipo de población masculina con VIH/SIDA, el 49,97% son HSH. Con respecto al tipo de población femenina con VIH/SIDA el 98,55% correspondió a población general. (ver tabla 2)

Durante el periodo de estudio hubo una mayor predominancia de fallecidos hombres que mujeres.

Es indispensable conocer la realidad de nuestro país ya que con ello se podrá tomar las medidas necesarias para controlar la situación, puesto que con la implementación de una adecuada prevención primaria las cifras de incidencias de infecciones de transmisión sexual estarán obligadas a disminuir, como así también el diagnóstico temprano del mismo podrá fortalecer el tratamiento y mejorar el estilo de vida de los pacientes.

Referencias Bibliográficas

Aguayo Ormeño, I. *Número de casos de VIH/SIDA registrados en Chile hasta el año 2022 y gasto en prevención del VIH/SIDA en Chile para el periodo 2020-2024*. Recuperado el 2 de septiembre de 2024, de

https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/35942/1/BCN_042_024_VIH_SIDA.pdf

Gobierno de España. *Mortalidad por VIH y SIDA en España*. Recuperado el 2 de septiembre de 2024, de https://www.sanidad.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/docs/Mortalidad_por_VIH2022.pdf

Instituto Nacional de Salud (Colombia). (2022). *Boletín Epidemiológico Semanal – Semana 47 de 2022*. Recuperado el 28 de mayo de 2025, de

https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2022_Boletin_epidemiologico_semana_47.pdf

Lamotte Castillo, J. A. (2014). Infección por VIH/sida en el mundo actual. *MEDISAN*, 18(7), 993-1013. Recuperado el 9 de septiembre de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192014000700015&lng=es

Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. (2020). *Boletim epidemiológico: HIV/Aids 2020*. Ministério da Saúde. Recuperado el 28 de mayo de 2025, de https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2020/boletim-hiv_aids-2020-internet.pdf

Ministerio de Salud de la Nación (Argentina). (2022). *Boletín Epidemiológico Nacional N.º 629*. Dirección de Epidemiología. Recuperado el 30 de mayo de 2025, de <https://iah.msal.gov.ar/doc/732.pdf>

ONUSIDA. (2021). *Estrategia mundial contra el sida 2021-2026: poner fin a las desigualdades, poner fin al sida*. Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/sida (ONUSIDA). Recuperado el 28 de mayo de 2025, de https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-strategy-2021-2026_es.pdf

Organización Mundial de la Salud. (2023).

VIH y sida. OMS. Recuperado el 2 de
septiembre de 2024, de
<https://www.who.int>

Organización Panamericana de la Salud.
(2023). *Hoja informativa*. Recuperado el 28
de mayo de 2025, de
<https://www.paho.org/es/temas/vihsida>

Salud Pública y Bienestar Social. *Informes
epidemiológicos*. Recuperado el 2 de
septiembre de 2024, de
[https://www.mspbs.gov.py/pronasida/infor
mes-varios.html](https://www.mspbs.gov.py/pronasida/informes-varios.html)

UNAIDS. (2023). *Hoja informativa -
Actualización mundial sobre el VIH y el
sida*. Programa Conjunto de las Naciones
Unidas sobre el VIH/sida (ONUSIDA).
Recuperado el 28 de mayo de 2025, de
[https://www.unaids.org/sites/default/files/m
edia_asset/UNAIDS FactSheet es.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf)

D-37. Agroalimentos

Actividad antifúngica, antimicotoxigénica y acción sobre membranas de un extracto de *Justicia xylosteoides*, su constituyente hinoquinina y el fungicida tebuconazol contra *Fusarium graminearum*

Autor: Sanchez Matias, Mariana del H.; E. mail: sanchezmatiasmariana@gmail.com

Orientador: Sampietro, Diego Alejandro; E. mail: dasampietro@hotmail.com

Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, LABIFITO, San Miguel de Tucumán, Argentina.

Resumen

Fusarium graminearum causa podredumbres en espigas de maíz en el NOA y en trigo en el centro de Argentina, reduciendo rendimientos y contaminando granos con micotoxinas, cuya presencia es riesgosa en seguridad alimentaria. Se requieren nuevos agentes antifúngicos. Este trabajo comparó la actividad antifúngica, el efecto sobre permeabilidad de membranas y la acción antitoxigénica contra *F. graminearum* del extracto foliar diclorometano (EFD) de *Justicia xylosteoides* y de su constituyente hinoquinina (H), respecto al fungicida tebuconazol (T). Se determinó la dosis inhibitoria mínima (DIM) de EFD y H mediante bioautografías sobre cromatofolios de sílica gel. Luego EFD y H se ensayaron a valores de DIM y a DIMx2, en presencia y ausencia de ergosterol exógeno (100 y 300 µg/ml), para determinar acción sobre membranas, complementado con observaciones por microscopía electrónica de barrido (SEM). También se ensayó la acumulación de biomasa y deoxinivalenol (DON) en medio líquido provocada por los agentes antifúngicos. Las bioautografías indicaron valores de DIM de 300 µg (EFD), 5 µg (H) y 0,06 µg (T). El ergosterol a 300 µg/ml anuló la actividad antifúngica de H y T tanto en DIM como en DIMx2 y, a 100 µg/ml, solo sobre H en la DIM. En el EFD, la inhibición desapareció a DIM con 300 µg/ml, pero persistió a DIMx2 y no se modificó con 100 µg/ml. Las imágenes SEM mostraron hifas rugosas y deformes tras los tratamientos. EFD y H redujeron la producción de DON (29 y 15 ng/mg, respectivamente) en comparación con T (81 ng/mg). EFD, y en mayor intensidad H, incrementaron la permeabilidad de membranas sin incrementar producción de DON, convirtiéndolos en opciones atractivas para seguridad alimentaria.

Palabras clave: bioautografía - deoxinivalenol - ergosterol

INTRODUCCIÓN

Fusarium graminearum causa podredumbres en espigas de maíz en el NOA y en trigo en el centro de Argentina. En maíz provoca la podredumbre de la



Figura 1: Maíz infectado por *F. graminearum*

espiga de *Gibberella* (Figura 1), también conocida como podredumbre rosa, donde los granos aparecen incrustados en un micelio rosado que avanza desde el ápice de la mazorca hacia la base de la misma y en el trigo “fusariosis de la espiga” o “golpe blanco”, consistente en un blanqueamiento de las espiguillas infectadas (Figura 2). Este hongo provoca importantes pérdidas económicas al reducir la productividad y la calidad de la cosecha de granos, que además contamina con micotoxinas, principalmente tricotecenos, en especial deoxinivalenol (DON), compuestos nocivos para la salud humana y animal. (Aristimuño Ficooseco y col., 2014). Los tricotecenos suelen acumularse en granos antes de la cosecha, y sus contenidos pueden incrementarse bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento (Bryden, 2012). El consumo de productos

contaminados con tricotecenos por parte de animales de interés zootécnico puede producir en los mismos trastornos diversos y hasta la muerte con importantes pérdidas en el sector agropecuario (Sampietro, 2022). Dado que los cereales forman parte de la dieta humana básica, la entrada de micotoxinas en la cadena alimentaria supone un importante problema de salud pública y significa una restricción a las exportaciones de la producción cerealera argentina, puesto que los países compradores establecieron normativas con máximos niveles permisibles de micotoxinas en granos y productos



Figura 2: Fusariosis de la espiga

derivados tanto para consumo humano como animal (Sampietro y col., 2011; 2012). Como estrategia de control de *Fusarium* se utilizan mezclas de antifúngicos con diferentes mecanismos de acción. Entre las formulaciones de mayor uso se encuentran las mezclas que contienen estrobilurinas, como el piraclostrobin, que son inhibidores de la respiración mitocondrial, y triazoles, tales como el tebuconazol (T), los cuales alteran

el funcionamiento normal de las membranas al inhibir la síntesis de ergosterol (Sanchez Matías y col., 2024). Sin embargo, la aplicación de fungicidas comerciales solos o en mezclas condujo al desarrollo de resistencia o resistencia cruzada a uno o más agentes antifúngicos sumado a la exposición por parte de la población fúngica a dosis subletales que potencian la acumulación de micotoxinas (Campbell y col., 2012). Otro problema de éstos antifúngicos es la toxicidad que poseen sobre el hombre y otros organismos que no son objeto de control (Audenaert y col., 2013). El manejo de la resistencia a los agentes antifúngicos actualmente comercializados se ha convertido en un pilar en la agricultura antes y después de la cosecha. Es por esto necesaria la incorporación al mercado de nuevos agentes antifúngicos y nuevas estrategias de uso que permitan disminuir sus efectos adversos. En este contexto, la biomasa vegetal es una fuente de metabolitos de alto valor, incluidos los antifúngicos útiles para el control de enfermedades agrícolas (Luís y col., 2016). En nuestra región, podrían brindar soluciones a estos problemas metabolitos secundarios producidos por plantas nativas del NOA, especialmente aquellas de la familia de las Acanthaceas donde se describe el género *Justicia* (Durkee, 1986). Este último es uno de los más grandes y complejos de ésta familia, con alrededor de

600 especies (Peichoto, 1998). Presenta un centro de diversidad importante en Sudamérica, donde probablemente habiten cerca de 300 especies. En Argentina está representado por 28 especies. Algunas (ej. *J. carnea* y *J. brasiliana*) se cultivan como ornamentales por sus flores llamativas (Ezcurra, 1999). Otras tienen importancia como forrajeras (ej. *J. squarrosa* y *J. tweediana*), o ecológica al formar parte del sotobosque de selvas y bosques húmedos, o dominar ambientes semiáridos. (Ezcurra, 2002). Especies de *Justicia* de otras partes del mundo demostraron contener compuestos fenólicos antifúngicos, especialmente lignanos, como ser las justicidinas A, B y P activos contra hongos levaduriformes y filamentosos (Corrêa y Alcântara, 2012), o moléculas como carinatona, difilina, justicidina A, taiwanina E y tuberculatina, con actividad citotóxica *in vitro* contra líneas celulares de cáncer (Susplugas, 2005). De la composición fitoquímica de especies de *Justicia* nativas del NOA, solo se conocen lignanos que



Figura 3: *Justicia xylosteoides*

recientemente nuestro grupo aisló de un extracto foliar diclorometano (EFD) de partes aéreas de *J. xylosteoides* (Sanchez Matías y col., 2024), incluyendo la hinoquinina (H) (Figura 3). Este arbusto perenne tiene valor como forraje natural y, tradicionalmente, las cenizas de su tallo leñoso se usan en baños para aliviar dolores óseos y articulares (Ceballos y Perea, 2014). Por primera vez, nuestro grupo demostró que sus extractos contienen agentes antifúngicos.

OBJETIVO

Comparar la actividad antifúngica, el efecto sobre permeabilidad de membranas y la acción antitoxigénica contra *F. graminearum* del EFD de *Justicia xylosteoides* y de su constituyente H, respecto al fungicida T.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: Se recolectaron partes aéreas de *Justicia xylosteoides* en Ampimpa (departamento Tafi del Valle, provincia de Tucumán, Argentina) durante el mes de marzo de 2017. Las partes aéreas se limpiaron de elementos extraños y se secaron a 45 °C en estufa con corriente de aire forzado durante 5 días. Luego se separaron las hojas y se pulverizaron en un molinillo de aspas. Las hojas trituradas (50 g) se maceraron en diclorometano, en relación 1:3 (p/v) durante 24 horas. Posteriormente, el extracto se filtró y el solvente orgánico se evaporó hasta sequedad en evaporador rotatorio

Senco R503b. El extracto foliar seco de diclorometano (EFD) se almacenó a 4 °C para ser posteriormente utilizado en ensayos de actividad antifúngica.

Obtención de hinoquinina: El EFD (400 mg) se cromatografió en una columna (20 x 3 cm) conteniendo 18 g de sílica gel (0,04-0,063 mm). La misma se eluyó con un gradiente de diclorometano: cloroformo (75:25 v/v), (50:50 v/v) y (5:95 v/v). Se recolectaron fracciones de 2 ml que se analizaron por TLC (fase móvil cloroformo: metanol, 99:1, v/v) y bajo luz UV de 365 nm. Se realizó un pool con las fracciones conteniendo la banda antifúngica de $R_f = 0,67$, se evaporó a sequedad. Se realizaron análisis de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN siguiendo a Sanchez Matías y col. (2024), determinándose que el pool está constituido efectivamente por hinoquinina con un alto grado de pureza.

Microorganismo: La cepa utilizada es productora de DON y pertenece a *F. graminearum sensu stricto* aislado de trigo (GVI-II-3 de La Plata, provincia de Buenos Aires).

Obtención del inóculo fúngico: Cajas de Petri con 5 ml de medio Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA: fosfato monopotásico 1 g/L, nitrato de potasio 1 g/L, sulfato de magnesio 0,5 g/L, cloruro de sodio, glucosa anhidra 0,2 g/L, sacarosa 0,2 g/L y agar 20 g/L) se inocularon con un plug de 3 mm de diámetro extraído del borde de una colonia fúngica de *F.*

graminearum crecida en medio peptona-malta para su activación (EMP: 15 g/l de extracto de malta, 5 g/l de peptona, 20 g/l de sacarosa, 20 g/l de agar). Las placas se incubaron a 25 °C, exponiéndose a luz UV de 365 nm durante 10 días para promover la esporulación. Las suspensiones de macroconidios se obtuvieron mediante lavado con 2 ml de solución fisiológica (0,9% NaCl). El recuento de los mismos se realizó en cámara de Neubauer bajo microscopio óptico hasta obtener suspensiones de macroconidios de $2,5 \times 10^4$ UFC/ml en solución fisiológica.

Actividad antifúngica: Determinación de la dosis inhibitoria mínima (DIM)

La actividad antifúngica se evaluó determinando la dosis mínima inhibitoria

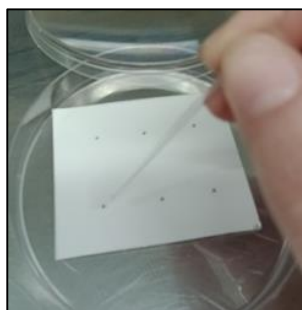


Figura 4: Siembra de dosis en cromatofolios

(DIM) mediante bioautografía de siembra puntual. Se sembraron dosis crecientes de EFD (75; 150; 300; 450 y 600 µg), H (2,5; 5; 9; 18; 37; 75 y

150 µg) y T (0,03; 0,06; 0,12 y 0,25 µg) en diferentes puntos sobre cromatofolios de sílica gel de 5 x 6 cm, colocados en el interior de cajas de Petri de vidrio estériles (Figura 4). Posteriormente se aplicó sobre los mismos una delgada capa (4 ml) de medio peptona-malta agar semisólido (EPM) conteniendo $2,5 \times 10^4$

macroconidios/ml de *F. graminearum*. Las cajas de Petri se incubaron en oscuridad durante 72 hs a 25 °C. Se definió la DIM para EFD, H o T como la menor dosis capaz de generar una zona de inhibición del crecimiento fúngico.

Efecto sobre permeabilidad de membranas: Prueba con ergosterol exógeno

El EFD, la H y el T se evaluaron mediante un ensayo bioautográfico a dosis equivalentes a la DIM y DIM×2 determinadas previamente en las bioautografías. Para la prueba, el medio EPM inoculado con *F. graminearum* (10^4 esporas/ml) se suplementó con 100 o 300 µg/mL de ergosterol. La solución de ergosterol se preparó a partir de un stock (50 mg/mL) disuelto en etanol:tween 80 (1:1, v/v) y se incorporó al medio semisólido en las concentraciones indicadas, añadiendo el mismo volumen de etanol:tween 80 al medio control. Los compuestos antifúngicos se aplicaron sobre placas de TLC en las dosis indicadas y posteriormente se recubrieron con el medio suplementado. El bioautograma se incubó a 25 °C en oscuridad. El efecto sobre el desarrollo fúngico se determinó a las 48 h, comparando las zonas de inhibición en presencia y ausencia de ergosterol exógeno.

Evaluación de biosíntesis de micotoxinas

Para evaluar el efecto de los principios antifúngicos sobre la síntesis de tricotecenos por *F. graminearum*, se prepararon tres concentraciones de cada agente antifúngico ensayado (EFD, H o T).

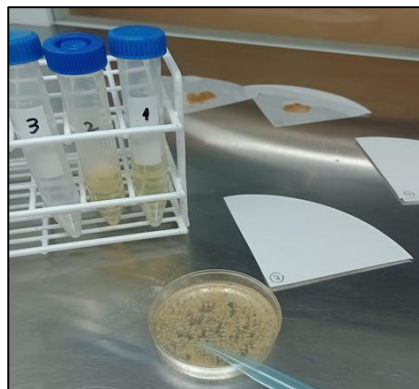


Figura 5: Separación de micelio y sobrenadante

Cada uno se disolvió inicialmente en 80 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO), antes de adicionarlo a 7,1 mL de medio inductor de tricotecenos (extracto de levadura 1 g/L, peptona 1 g/L y glucosa 50 g/L) inoculado con 0,8 mL de una suspensión de *F. graminearum* conteniendo 2×10^4 macroconidios/mL. Se ensayaron concentraciones de EFD (100,5 y 25 μ g/ml), H (5 y 2,5 μ g/ml), y T (0,24; 0,12 y 0,06 μ g/ml) y un control conteniendo 80 μ L de DMSO pero sin adición de sustancias. Cada concentración y el control se realizaron en tres réplicas independientes. El volumen final fue de 8 mL para cada concentración o control. Estos volúmenes se vertieron en placas de Petri de 5 cm, las cuales se incubaron durante 7 días a 25 °C y en oscuridad. Al cabo de ese tiempo, el micelio se separó por centrifugación a 900 rpm durante 10 minutos. El micelio

precipitado se transfirió a un papel de filtro previamente tarado, y se secó en estufa durante 48 hs, pesándose a intervalos para chequear que efectivamente se alcanzó peso constante (Figura 5). El sobrenadante obtenido se empleó en la medición de DON, mediante el kit RIDASCREEN®FAST DON (Biopharm, Darmstadt, Alemania; límite de detección < 0,2 ppm), siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación se leyó absorbancia a 450 nm. Los valores obtenidos se procesaron en software RIDA SOFT Win.NET (versión 1.99) y se informaron como medias de ng DON/mg de micelio. Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y posterior evaluación de diferencias entre medias (prueba T3 de Dunnet, $p = 0,05$).

Observación de daños en las hifas: microscopía electrónica de barrido (SEM)

Bioautografías obtenidas para EFD, H y T en los valores correspondientes a DIM se sometieron a microscopía electrónica de barrido (SEM). Las periferias inmediatas a cada halo de supresión fúngica se recortaron y fijaron en glutaraldehído 1.66% y paraformaldehído 2.66%, en buffer fosfato para su posterior procesamiento a cargo del servicio de microscopía electrónica de la UNT (CIME) y observación en su equipo Zeiss SUPRA 55VP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos bioautográficos se muestran en la figura 6 e indicaron valores de DIM de EFD (300 μ g) y H (5 μ g), los cuales fueron varias veces superiores al de T (0,06 μ g).

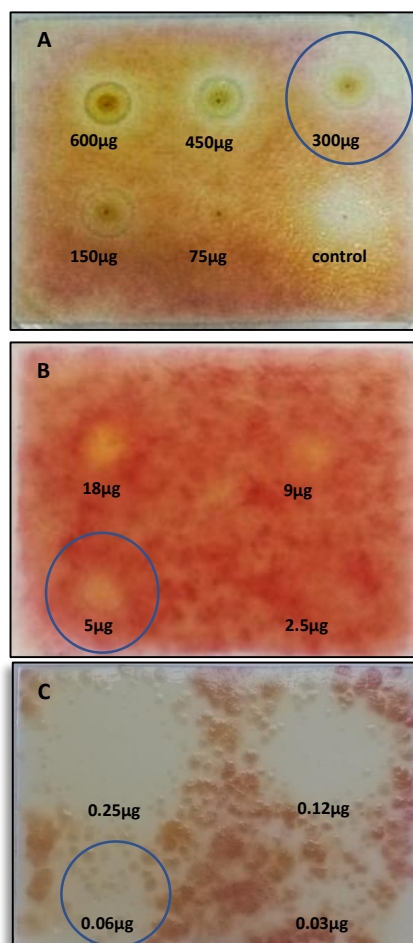


Figura 6: Pruebas bioautográficas de EFD (A), H (B) y T (C). Se señala la DIM obtenida para cada principio antifúngico.

Se seleccionó la bioautografía debido a la baja solubilidad en agua de H y de algunos componentes de EFD, así como también a la limitada disponibilidad de H, puesto que investigaciones previas nos indicaron que, ante estas restricciones, el método bioautográfico resulta más sensible y reproducible que otros ensayos usualmente empleados en nuestro laboratorio como el de microdilución en

medio líquido o la difusión desde disco (Gómez y col., 2020; Sanchez Matías y col., 2025). La bioactividad de la hinoquinina se investigó anteriormente contra otros microorganismos. Por ejemplo, Silva y col. (2009) examinaron la actividad de este compuesto contra patógenos orales como *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y varias cepas de *Streptococcus*, donde se demostró una discreta actividad antimicrobiana. También se estudiaron las actividades antiinflamatorias y antitripanosómica de hinoquinina (Marcotullio, 2014). Por otro lado, la hinoquinina aislada de *C. leptophloeos* fue antibacteriana contra MRSA aislado de sangre (Souza Pereira y col., 2017). En los últimos años, las actividades biológicas de varios lignanos se investigaron en profundidad (Aehle et al., 2011; Zhang et al., 2014). En el caso de la hinoquinina, ésta tiene un interesante potencial farmacológico (Souza Pereira y col., 2017), demostrando nuestro grupo por primera vez su actividad antifúngica contra hongos filamentosos (Sanchez Matías y col., 2024).

Los valores de DIM obtenidos permitieron evaluar el efecto de los antifúngicos sobre la permeabilidad de membrana al añadir ergosterol exógeno al medio. Incorporado a concentración de 300 μ g/ml, el ergosterol exógeno anuló la actividad antifúngica de H y T tanto en DIM como en DIMx2 (Figura 7-DyF) y, a 100 μ g/ml, solo la de H en la DIM

(Figura 7C). En el EFD, la inhibición desapareció a DIM con 300 $\mu\text{g/ml}$, pero persistió a DIMx2 (Figura 7B) y no se modificó con 100 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 7A). De este modo, se deduce que H interactúa directa o indirectamente con el ergosterol, o bien afecta su síntesis, mientras que la acción EFD probablemente se deba parcialmente a ello.

lisas y uniformes, sin rupturas ni engrosamientos irregulares, y no se observan deformaciones, nudos, ni colapsos estructurales. El micelio crecido en presencia de T (Figura 8B) muestra hifas de morfología irregular, con algunos engrosamientos localizados, y pérdida de continuidad, superficies menos definidas y zonas colapsadas. También se observan

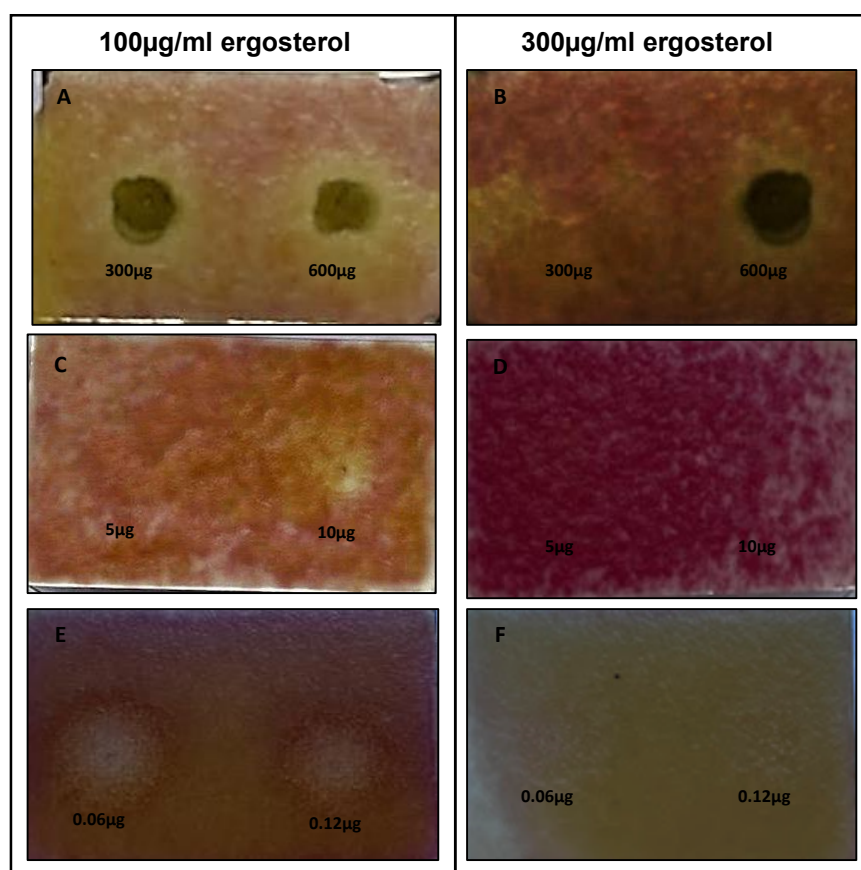


Figura 7: Pruebas bioautográficas con 100 y 300 $\mu\text{g/ml}$ de ergosterol exógeno. Las imágenes AyB corresponden a EFD, CyD a H y EyF a T.

Las micrografías SEM (Figura 8) permiten comparar el efecto de T, H y EFD sobre el crecimiento micelial. En micelio sin tratamiento (Figura 8A), las hifas de *F. graminearum* están bien extendidas y entrelazadas formando una red continua. Las hifas se ven delgadas, con superficies

ramificaciones más cortas y menos frecuentes respecto al control, así como curvaturas anómalas, sugiriendo alteraciones estructurales. En el caso de H y EFD (Figuras 8C y D, respectivamente), se visualizan engrosamientos localizados y nudos

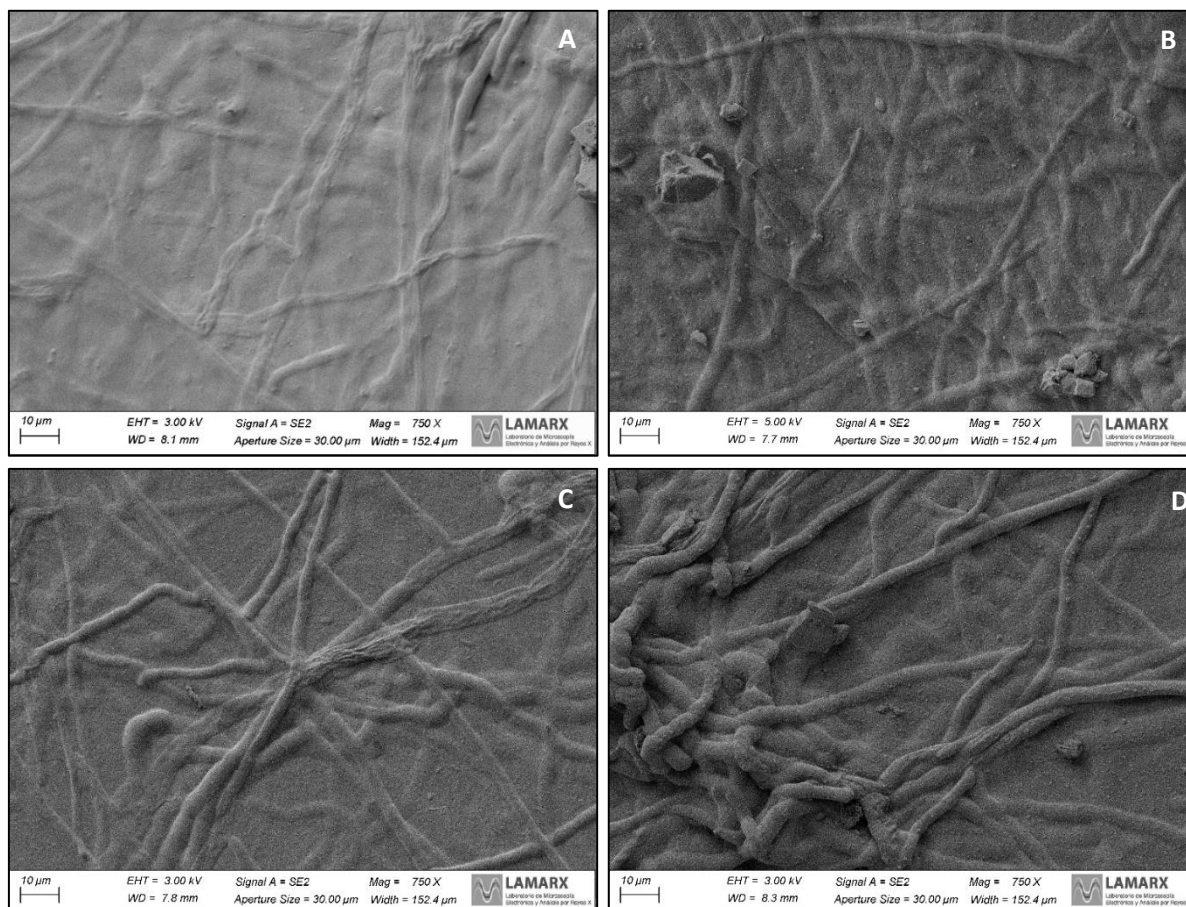


Figura 8: Micrografías por microscopía electrónica de barrido (SEM) de *F. graminearum* sin exposición (A) y expuesto a tebuconazol (B), hinoquinina (C) y extracto foliar diclorometano (EFD) de *J. xylosteoides* (D).

prominentes a lo largo de las hifas. Algunas hifas presentan deformaciones irregulares, como curvaturas o retorcimientos que podrían indicar alteraciones en la construcción de las paredes celulares. Los fungicidas azoles al ser aplicados sobre las espigas de los cereales, pueden sufrir degradación o generar coberturas desiguales, lo cual desencadena la exposición de *Fusarium* a dosis subletales. Esta situación suele provocar que *Fusarium* incremente su capacidad de acumulación de tricotecenos, incluyendo DON (Vogt y col., 2013). En concordancia con lo indicado, la tabla 1 muestra una

mayor acumulación de DON bajo todas las concentraciones subletales ensayadas de T, respecto al control, mientras que EFD provocó una mayor acumulación a la menor concentración ensayada, y un descenso hasta niveles menores a los del control en concentraciones superiores. La H fue capaz de inhibir la acumulación de DON en todas las concentraciones ensayadas. La inhibición de la biosíntesis de DON provocada por H concuerda con los informes existentes para otros lignanos, fracciones ricas en fenólicos y compuestos fenólicos individuales (Aristimuño Ficosco y col., 2017). Esta respuesta se asoció con

una disminución en el estado redox de las células fúngicas, lo que refuerza la hipótesis de que los compuestos fenólicos, incluidos los lignanos, previenen o minimizan el logro de un umbral de estrés oxidativo específico necesario para desencadenar la biosíntesis de DON (Sampietro, 2022). La inhibición del DON podría ocurrir a nivel transcripcional de genes que codifican enzimas involucradas en la biosíntesis de DON, como se

demostró para el ácido ferúlico y los lignanos pinoresinol y secoisolariciresinol con tri4, tri5 y tri11 (Kulik y col., 2014). El DON, además de ser un contaminante indeseable por su toxicidad para el hombre y los animales, es también fitotóxico para el trigo y el maíz, donde actúa como factor de virulencia de *F. graminearum*. Por lo tanto, la capacidad de H para inhibir el DON es una característica prometedora, y el mecanismo subyacente merece más investigación.

Tabla 1. Efecto de H, EFD y T sobre la producción de deoxinivalenol (DON).

	Concentración (µg/ml)	DON (ng/mg)
Control	0	38±2b
EFD	25	82±3a
	50	21±3b
	100	29±2b
H	2.5	15±2e
	5	18±2e
T	0.06	62±1c
	0.12	68±2d
	0.24	81±3 ^a

CONCLUSIÓN

El EFD de *J. xylosteoides*, y en mayor intensidad H, incrementaron la permeabilidad de membranas sin estimular la producción de DON, convirtiéndolos en atractivos pesticidas naturales. Para ello es necesario evaluar en profundidad, entre otros, sus efectos en organismos que no son objeto de control, formulación y posible rentabilidad de uso.

BIBLIOGRAFÍA

- Aristimuño Fico seco, M.E., Vattuone, M.A., Audenaert, K., Catalán, C.A., Sampietro, D.A. (2014). Antifungal and antimycotoxigenic metabolites in Anacardiaceae species from northwest Argentina: isolation, identification and potential for control of Fusarium species. Journal of Applied Microbiology 116: 1262-73.
- Aristimuño Fico seco, M.E., Sequin, C.J., Aceñolaza, P.G., Vattuone, M.A., Catalán, C.A., Sampietro, D.A. (2017). Antifungal metabolites from Schinopsis balansae Engl (Anacardiaceae): isolation, identification and evidences of their mode of action on Fusarium graminearum Schwabe. Natural Product Research 31: 1450-1453.
- Audenaert, K., Vanheule, A., Höfte, M., Haesaert, G. (2013). Deoxynivalenol: a major player in the multifaceted response of Fusarium to its environment. Toxins (Basel). 6: 1-19.
- Bryden, W.L. (2012) Mycotoxin Contamination of the Feed Supply Chain: Implications for

- Animal Productivity and Feed Security. Animal Feed Science and Technology, 173, 134-158.
- Campbell, B.C., Chan, K.L., Kim, J.H. (2012). Chemosensitization as a means to augment commercial antifungal agents. *Frontiers in Microbiology* 3:79.
- Ceballos, S.J., Perea, M.C. (2014). Plantas medicinales utilizadas por la comunidad indígena de Quilmes (Tucumán, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 13: 47-68.
- Corrêa G.M y Alcântara AFC (2012). Chemical constituents and biological activities of species of *Justicia*: a review. *Rev. Bras. Farmacog.* 22: 220-238.
- Durkee, L. H. (1986). Family 200 Acanthaceae. In: W. Burger (ed.), *Flora Costaricensis*. Fieldiana, Bot., n.s. 18: 1–87.
- Ezcurra, C. (1999). Acanthaceae. En: Zuloaga, F. O. y O. Morrone (eds.). *Catálogo de la Plantas Vasculares de la República Argentina II. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. Missouri Botanical Garden Press, Saint Louis. Vol. 74: 1-14 pp.
- Ezcurra, C. (2002). El género *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamérica austral. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 225-280.
- Kulik T, Buško M, Pszczółkowska A, Perkowski J, Okorski A. 2014. Plant lignans inhibit growth and trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum*. *Lett Appl Microbiol* 59: 99-107.
- Luís, Â., Neiva, D. M., Pereira, H., Gominho, J., Domingues, F., y Duarte, A. P. (2016). Bioassay-guided fractionation, GC–MS identification and in vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of bioactive compounds from *Eucalyptus globulus* stump wood methanolic extract. *Industrial Crops and Products*, 91, 97–103.
- Marcotullio, M.C., Pelosi, A. y Curini, M. (2014). *Molecules* 2014, 19, 14862-14878.
- Peichoto, M.C, Ezcurra, C. y Wasshausen, D. (1998). *Justicia floribunda* (Acanthaceae), nueva combinación y nueva cita para la flora argentina. 8 *Darwiniana*. T. 35, No. 1/4 (1998), pp. 151-154.
- Sampietro, D. A. (2022). Allelochemicals from native plants of Argentina: Control of stored grains fungi. *Allelopathy Journal* 55: 133-150.
- Sampietro, D. A.; Díaz, C. G.; Gonzalez, V.; Vattuone, M. A.; Ploper, L. D.; Catalan, C. A. N. y Ward, T. J. (2011). Species diversity and toxigenic potential of *Fusarium graminearum* complex isolates from maize fields in northwest Argentina. *International journal of food microbiology*, 145 (1): pp. 359-364.
- Sampietro, D. A.; Ficosco, M. E. A.; Jimenez, C. M.; Vattuone, M. A. y Catalán, C. A. (2012). Trichothecene genotypes and chemotypes in *Fusarium graminearum* complex strains isolated from maize fields

of northwest Argentina. International journal of food microbiology, 153 (1): pp. 229-233.

Sanchez Matías, M.H., Gómez, A.A. Jiménez, C.M., Tanguy Guillo, S., Aristimuño Fico seco, M.E., Catalán, C.A.N., Grougnet, R., Kritsanida, M., Sampietro, D.A. (2024). Antifungal activity of extracts from Justicia species against Fusarium graminearum. Nat. Prod. Res. 5:1-6.

Silva, M.L.A.; Martins, C.H.G.; Lucarini, R.; Sato, D.N.; Pavanb, F.R.; Freitas, N.H.A.; Andrade, L.N.; Pereira, A.C.; Bianco, T.N.C.; Vinholis, A.H.C.; et al. (2009). Antimycobacterial activity of natural and semi-synthetic lignans. Z. Naturforsch. C 2009, 64, 779–784.

Souza Pereira, J.J, Pereira, A., Jandú, J.J.B, Da Paz, J., Crovella, S., Dos Santos, M.T., y Azevêdo Silva, J. (2017) Commiphora leptophloeos Phytochemical and Antimicrobial Characterization. Frontiers of Microbiology. 8: 52.

Susplugas, S., Hung, N.V., Bignon, J., Thoison, O., Kruczynski, A., Sévenet, T., Guéritte, F. (2005). Cytotoxic aryl naphthalene lignans from a Vietnamese acanthaceae, Justicia patentiflora. Journal of Natural Products 68: 734-738.

Vogt, V., Cifuentes, D., Tonn, C., Sabini, L., Rosas, S. (2013). Antifungal activity in vitro and in vivo of extracts and lignans isolated from Larrea divaricata Cav. against phytopathogenic fungus. Ind Crops Prod 42: 583-586.

37. Agroalimentos

Efecto de la Combinación de Sustrato en la Emergencia y Desarrollo de Plántulas de Tomate Var Santa Adelia Super

Autores: Ayala, Aracelly; aracellysab242003; Cohene, Samira; ayelensamira071@gmail.com; Galeano, Elena; villorrioelenamonserrat@gmail.com; Mora, María; mariamora6313@gmail.com; Velazco, Junior; juniorvelazco08@icloud.com

Orientadoras: Báez, Cynthia; cybaez91@gmail.com; Barrios, Graciela; grajubarrios@gmail.com; Godoy, María; godoydurem@gmail.com; Riveros, Víctor; vic-riveros@hotmail.com

Universidad Nacional de Pilar/Facultad de Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural

Resumen

El propósito de la investigación fue analizar cómo diferentes mezclas de sustratos afectan la aparición y el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) Var. *Santa Adelia Súper*, con el objetivo de determinar la combinación más apropiada para lograr plantas robustas. El método aplicado fue experimental; se realizaron comparaciones entre tres tratamientos: T1 (25% de fibra de coco + 50% de arena gruesa + 25% de humus de lombriz), T2 (25% de carbonilla + 50% de arena de río + 25% de aserrín picado) y T3 (40% de mantillo de bosque + 40% de materia vegetal acuática en descomposición + 20% de estiércol de vaca). La prueba se llevó a cabo en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural de la Universidad Nacional de Pilar, utilizando un diseño totalmente aleatorio con 8 repeticiones y un total de 144 plántulas analizadas. Se registraron características morfológicas como la longitud de la planta, el largo de la raíz y el grosor del tallo. Los distintos datos revelaron variaciones importantes entre los tratamientos: T1 presentó el aumento más notable en altura total (18,5 cm), lo que indica buena circulación de aire y disponibilidad de nutrientes. T2 mostró el crecimiento más restringido (5 cm), posiblemente debido a la escasa disponibilidad de nutrientes y la retención de nitrógeno del aserrín. A diferencia de T3, tuvo un crecimiento moderado en altura (11,6 cm), pero se destacó en el tamaño de las raíces (8,1 cm), lo que mejora la captación de agua y nutrientes. Se puede decir que, T1 demostró ser más efectiva para el crecimiento en la parte superior, mientras que T3 fue mejor para el crecimiento de las raíces, y T2 no fue muy beneficiosa.

Palabras Claves: Mudas, Semillas, Sustratos.

Introducción

Los sistemas de producción de las hortalizas exigen conocimientos actualizados en cuanto a preparación en todos los aspectos del cultivo; no obstante, una de las prioridades es la producción de las mudas de tomate, ya que constituye una de las fases más críticas del sistema hortícola, considerando que de la calidad de las plántulas dependerá en gran medida el éxito del cultivo en campo. Para obtener mudas vigorosas es fundamental iniciar con semillas certificadas de variedades o híbridos adaptados a la zona de producción. La preparación del sustrato debe garantizar buena aireación, capacidad de retención de agua y ausencia de patógenos, siendo comunes la utilización de sustratos comerciales (Figueredo, 2019)

Por lo anteriormente expuesto, surge la necesidad de identificar y evaluar diversos materiales orgánicos que están al alcance y disponibles, los cuales se tomaron en cuenta como recursos en este estudio. (Ortega, Sanchez, Díaz, & Ocampo, 2010). Estos recursos no solo son opciones de fácil acceso, sino que también ofrecen características particulares que elevan la calidad del material base:

T1: El 25% de fibra de coco ayuda a que el aire circule y mantiene la humedad,

previniendo que el sustrato se compacte; el 50% de arena gruesa facilita el drenaje y reduce el riesgo de encharcamiento; el 25% de humus de lombriz proporciona nutrientes de liberación gradual y aumenta la actividad de los microorganismos.

T2: La carbonilla 25% ayuda a mantener los nutrientes, controla el pH y mejora la aireación; la arena de río 50% proporciona una textura suelta y estabilidad, favoreciendo el crecimiento de las raíces + el aserrín molido 25% incrementa la aireación, funciona como material de soporte y ayuda a conservar la humedad.

T3: El mantillo de bosque 40% aporta microorganismos positivos y material orgánico en proceso de descomposición; La descomposición de plantas acuáticas 40% suministra nutrientes minerales y materia orgánica que se descompone con facilidad; El estiércol V 20% es una excelente fuente de nitrógeno y otros nutrientes importantes, y también mejora la fertilidad y la capacidad de retención de agua del sustrato.

Así, al mezclar estos materiales se pueden crear sustratos que están bien equilibrados, lo que ayuda en la germinación, el crecimiento y el desarrollo sano de las plantas.

Antecedentes

La fibra de coco se obtiene del mesocarpio del coco, la capa fibrosa que

se encuentra entre la cáscara dura y la pulpa del fruto de la palmera cocotera.

Composición: materia orgánica 85-95%, pH: ligeramente ácido (5.5-6.5), capacidad de retención de agua: hasta 8 veces su peso, ce (conductividad eléctrica): puede ser alta si no se lava (0.5 – 3.0 ds/m) (Anónimo, AEFA).

Originaria de la trituración de rocas o extracción de ríos (granulometría gruesa).

Composición: materia orgánica (cuarzo, feldespatos, mica), al ser un material inerte, no retiene nutrientes, por lo que debe combinarse con otros sustratos ricos en materia orgánica.

Se origina del estiércol de la lombriz, generado por el proceso de digestión de los alimentos que ingiere (sustancias orgánicas). Compuesto de materia orgánica estable (60-80%) y nutrientes como n (1-2%), p (0.5-1.2%), k (0.5-1.0%) y un ph neutro (6.5- 7.5) (Cruz, 2023).

La carbonilla es un residuo de la producción de carbón vegetal con potencial para utilizarse como componente de sustratos. Compuesto por: carbón fijo (60-90%), ph alcalino (7.5-9.5) (Rubio, Bernárdez, Bárbaro, & Karlanian, 2024).

La arena de río es un sustrato formado por la erosión de rocas y minerales. Es un recurso natural que se encuentra en lechos de ríos y arroyos, caracterizado por sus granos redondeados y su superficie lisa. Compuesto por un mineral principal (cuarzo), cuenta con un ph neutro,

retención de agua muy baja, nutrientes nulos (Anónimo.).

La molido de aserrín se origina en la industria maderera como resultado del proceso de corte o aserrado de la madera. Compuesto por alta materia orgánica, ph ácido (4-6%), nutrientes muy bajos (MADERA PARA EXTERIOR By Eiforsa, s.f.)

Es la cubierta natural de materia orgánica en descomposición (hojas, ramas, etc.)

Que se forma sobre la superficie del suelo en los bosques. Composición: materia orgánica: alta, c/n: 30–60, ph: levemente ácido (5.5–6.5), actividad biológica: muy alta (Anónimo., Verdecora Blog).

La descomposición de plantas acuáticas se produce por la acción de bacterias y hongos que transforman la materia orgánica de los restos vegetales en compuestos inorgánicos, como dióxido de carbono y amoníaco, liberando nutrientes al medio. Composición: alta materia orgánica, ph neutro a ligeramente ácido (Boyd, 2017).

El estiércol de vaca es un abono orgánico valioso con origen en los desechos del ganado, que puede ser transformado (compostado) para mejorar la calidad del suelo y aportar nutrientes. Composición: materia orgánica media (40–50%), nutrientes como: (n: 0.5–1.5%, p: 0.3–0.9%, k: 0.4–1.0%), pH: 6.5–8.0 (Jardineros en Lima).

Objetivo General

Evaluar el efecto de diferentes combinaciones de sustratos en la emergencia y desarrollo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Var. *Santa Adelia Súper*, con el fin de identificar la mezcla más adecuada para la producción de plántulas vigorosas y de calidad.

Objetivos Específicos

- Comparar el porcentaje de emergencia de plántulas de tomate bajo distintas combinaciones de sustratos.
- Analizar el efecto de los sustratos en variables morfológicas como altura de plántula, diámetro del tallo y longitud radicular.
- Identificar la combinación de sustrato más eficiente que favorezca un desarrollo uniforme y vigoroso de plántulas, optimizando la producción en vivero o bandejas de germinación.

Materiales y Métodos

La metodología utilizada fue experimental, de campo. La investigación se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural de la Universidad Nacional de Pilar, ubicado en el barrio Ytororõ. Se utilizaron tres combinaciones diferentes de sustratos: T1: Fibra de coco (25%) + arena gruesa

(50%) + humus de lombriz (25%). T2: Carbonilla (25%) + arena de río (50%) + aserrín triturado (25%). T3: Mantillo de bosque (40%) + descomposición de vegetación acuática (40%) + estiércol de vaca (20%). Estos materiales fueron elegidos por su disponibilidad y facilidad de obtención. Se dispusieron bandejas de germinación de plástico, diseñadas específicamente para la producción de plántulas, con un total de 200 cavidades en cada una. Las mencionadas bandejas fueron sometidas a un proceso de desinfección utilizando una solución de cloro al 5%, y posteriormente fueron enjuagadas con agua. seguidamente, se completaron con las distintas combinaciones de sustrato adecuadas. Las semillas fueron implantadas a una profundidad de 5 mm, colocando tres semillas en cada hueco. La semilla empleada fue *Santa Adelia Súper*, con un índice de germinación alcanzando el 90% y una pureza del 99%. El riego se llevó a cabo de manera manual mediante un atomizador hasta la aparición de las plántulas, y luego se utilizó una regadera. Las bandejas fueron situadas en el invernadero y se llevó a cabo un riego diario por la mañana. La disposición de los tratamientos dentro del invernadero se realizó siguiendo un diseño completamente aleatorio, con un total de 8 bandejas y 8 repeticiones. Para la evaluación de los parámetros de las

plántulas, se tomó una muestra compuesta de seis plantas por cada repetición. La evaluación de la germinación se realizó cinco días tras la siembra, tomando como referencia la emergencia de los primeros cotiledones. La aparición de las plántulas fue observada entre siete y catorce días después de la siembra. Se registraron la altura de la planta, la longitud de la raíz y el grosor del tallo. Con este propósito, se empleó un micrómetro digital. La medida de la altura se realizó desde la base del tronco hasta la punta de la hoja, la raíz se midió desde la base del tronco hacia abajo, y el diámetro del tronco se tomó en la sección media de la planta. Se contabilizaron un total de 144 plántulas (Dioceña Guambi, 2023).

Resultados y discusión

En el siguiente gráfico los resultados indican variaciones en el desarrollo de las plántulas de tomate según el sustrato empleado. En el tratamiento T1 (coco + arena gruesa + humus de lombriz), las plántulas mostraron el mayor crecimiento en altura total (18,5 cm), lo que indica que la combinación facilitó una buena circulación de aire y conservación de nutrientes. El humus generado por lombrices podría haber proporcionado nutrientes importantes y microorganismos útiles que impulsaron el desarrollo de las plantas. Este resultado coincide con lo expuesto por otros autores, como

(Ortega.M., 2010), quienes mencionaron “que la fibra de coco es propicia para la aireación, mientras que el humus de lombriz aporta nutrientes que se van liberando de manera gradual, estimulando el desarrollo vegetativo”.

En oposición, el tratamiento T2 (carbonilla + arena de río + aserrín triturado) mostró el crecimiento más reducido en términos de altura total (5 cm) así como en la longitud del tallo (1,6 cm). Esto se debe a que la carbonilla y el aserrín, en cantidades elevadas, suelen mostrar escasa disponibilidad de nutrientes y, específicamente en el caso del aserrín, pueden llegar a retener nitrógeno durante su proceso de descomposición, lo que restringe el desarrollo de las plántulas.

Por su parte, el tratamiento T3 (mantillo de bosque + vegetación acuática descompuesta + estiércol de vaca), se evidenció un crecimiento promedio de la planta total (11,6 cm), sin embargo, resaltó en la promoción del desarrollo de las raíces (8,1 cm), superando así a las otras modalidades de tratamiento. Esto sugiere que la mezcla natural de este sustrato potenció el desarrollo de raíces, probablemente debido a la mayor accesibilidad de materia orgánica en descomposición y a la habilidad para retener agua, elementos que favorecen el enraizamiento. Los resultados son consistentes con lo mencionado por (Boyd.C., 2017), quien expuso que “la

materia orgánica descompuesta es favorable para mejorar la estructura del sustrato, aumentando la capacidad de retención de agua, lo que impacta positivamente en el sistema radicular de las plantas”.

Por lo tanto, el experimento indica que T1 representa la opción más ventajosa para el crecimiento aéreo de las plántulas, mientras que T3 se muestra más eficaz para promover el desarrollo de raíces. T2, por otro lado, resultó menos adecuado, restringiendo de manera considerable el crecimiento global del cultivo. Estos datos destacan la relevancia de elegir combinaciones adecuadas de sustratos que proporcionen, al mismo tiempo, nutrientes, porosidad y capacidad de retención de agua, con el fin de asegurar un desarrollo óptimo en la producción de plantines de tomate.

Gráfico N°1. Datos promediados

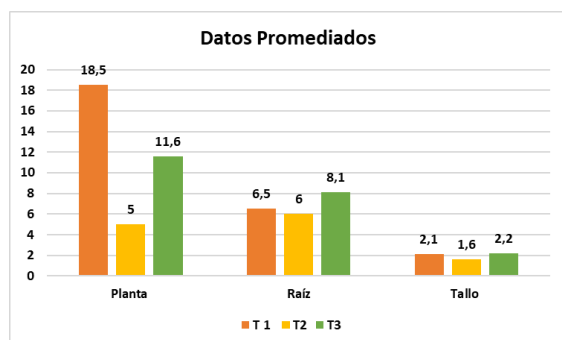


Tabla N°1. Análisis de varianza Datos de medición de Raíz

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	20,3971083	2	10,1985542	10,2159578	0,00079668	3,46680011
Dentro de los grupos	20,964225	21	0,99829643			
Total	41,3613333	23				

Tabla N°2. Análisis de varianza Datos de medición de Tallo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6,3853	2	3,19265	136,953631	8,9455E-13	3,46680011
Dentro de los grupos	0,48965	21	0,0233119			
Total	6,87495	23				

Tabla N°3. Análisis de varianza Datos de medición de Planta

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	747,2569	2	373,62845	2,90368626	0,07702523	3,46680011
Dentro de los grupos	2702,15056	21	128,673836			
Total	3449,40746	23				

Conclusión

La investigación demuestra que la selección del sustrato impacta de manera directa en el crecimiento de las plántulas de tomate. El procedimiento T1, es el más beneficioso para el desarrollo del crecimiento aéreo, logrando una altura de 18,5 cm, debido a la correcta aireación y suministro de nutrientes. Por otro lado, T3, evidenció un aumento moderado en su altura (11,6 cm), sin embargo, sobresalió en el incremento de las raíces (8,1 cm), lo que asegura una óptima captación de nutrientes. T2, en cambio, restringió de manera considerable el desarrollo. Por lo

tanto, T1 y T3 presentan beneficios particulares que potencian el crecimiento global del cultivo.

Bibliografía

Anónimo. (21 de abril de 2023).

Bioespacio Orgánicos y Minerales.
Obtenido de LA UTILIZACIÓN DE
LA CASCARILLA DE ARROZ EN
LA AGRICULTURA:
<https://bioespacio.co/la-utilizacion-de-la-cascarilla-de-arroz-en-la-agricultura/>

Anónimo. (s.f.). AEFA. Obtenido de Fibra

de coco:
[https://aeфа-agronutrientes.org/glosario-de-terminos-utiles-en-agronutricion/fibra-de-coco#:~:text=%C2%ABFibra%20de%20coco%C2%BB%20es%20el,del%20cocotero%20\(Cocos%20nucifera\)](https://aeфа-agronutrientes.org/glosario-de-terminos-utiles-en-agronutricion/fibra-de-coco#:~:text=%C2%ABFibra%20de%20coco%C2%BB%20es%20el,del%20cocotero%20(Cocos%20nucifera))

Anónimo. (s.f.). *Bioespacio Organicos y*

Minerales. Obtenido de ARENA DE
RIO:
<https://bioespacio.co/sustratos/arena-rio-jardinera-colombia#:~:text=L%20arena%20de%20r%C3%ADo%20es,mejorar%20la%20estructura%20del%20suelo.>

Anónimo. (s.f.). FAO. Obtenido de REDD+

Reducción de las emisiones
derivadas de la deforestación y la
degradación de los bosques:
<https://www.fao.org/redd/areas-of-work/las-turberas/es/#:~:text=%C2%>

BFQu%C3%A9%20es%20la%20tu
rba?,de%20carbono%20sobre%20l
a%20tierra.

Anónimo. (s.f.). *MADERA PARA*

EXTERIOR By Eiforsa. Obtenido
de Aserrín de madera: Tipos, usos
y curiosidades:
<https://maderaparaexterior.es/aserrin-de-madera/#:~:text=El%20aserr%C3%ADn%20de%20madera%20es,su%20importancia%20y%20aplicaciones%20pr%C3%A1cticas.>

Anónimo. (s.f.). *verdecora Blog*. Obtenido

de Qué es el mantillo para plantas
y para qué sirve:
<https://verdecora.es/blog/mantillo-que-es-usos>

Boyd.C. (26 de 05 de 2017). *Global*

Seafood ALLIANCE. Obtenido de
Cómo la revisión de la materia
orgánica impacta los estanques
acuícolas:

<https://www.globalseafood.org/advocate/como-la-descomposicion-de-la-materia-organica-impacta-los-estanques-acuicolas/>

Boyd.C.. (26 de Mayo de 2017). *Global*

Seafood Alliance. Obtenido de
Cómo la descomposición de la
materia orgánica impacta los
estanques acuícolas.:
<https://www.globalseafood.org/advocate/como-la-descomposicion-de-la-materia-organica-impacta-los-estanques-acuicolas/>

- Cruz.L. (24 de enero de 2023). *Soluciones Naturales Pro*. Obtenido de Humus de lombriz: ¿Qué es y para qué sirve?:
<https://solucionesnaturalespro.com.mx/humus-de-lombriz-que-es-y-para-que-sirve/#:~:text=%C2%BFDe%20d%C3%B3nde%20se%20obtiene%20el,de%20calcio%20y%20de%20magnesio.>
- Dioceña Guambi, L. A. D. (2023). Herramientas estadísticas para la investigación agropecuaria [Text.Chapter]. Portal de Libros Universidad Técnica de Babahoyo.
<https://libros.utb.edu.ec/index.php/utb/catalog/view/107/74/291>
- Figueredo.E. (2019). *INSTITUTO PARAGUAYO DE TECNOLOGÍA AGRARIA*. Obtenido de MANUAL TÉCNICO:
<https://www.redalyc.org/pdf/461/46116015005.pdf>
- Jardineros en Lima*. (s.f.). Obtenido de Estiércol de vaca propiedades y beneficios:
<https://www.jardinerosenlima.com/blog/estiercol-de-vaca-propiedades-y-beneficios/#:~:text=El%20esti%C3%A9rcol%20de%20vaca%2C%20siendo,necesarios%20para%20su%20crecimiento%20saludable.>
- Ortega.M, Sanchez.O, Díaz.R, & Ocampo.J. (Septiembre-Noviembre de 2010). *Ra Ximhai*. Obtenido de EFECTO DE DIFERENTES SUSTRATOS EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE TOMATE (*Lycopersicum esculentum* MILL):
<https://www.redalyc.org/pdf/461/46116015005.pdf>
- Ortega.M. (2010). Obtenido de Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de tomates (*Lycopersicum esculentum* MILL).:
<https://www.redalyc.org/pdf/461/46116015005.pdf>
- Pineda.J, Castillo.F, Arias.A, González.A, Aguilar.L, & Pérez.E. (Enero de 2012). *SCiELO*. Obtenido de Aserrín de pino como sustrato hidropónico. I: Variación en características físicas durante cinco ciclos de cultivo:
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000100007#:~:text=El%20aserr%C3%ADn%20de%20pino%20\(Pinus,que%20tiene%20potencial%20como%20sustrato.](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000100007#:~:text=El%20aserr%C3%ADn%20de%20pino%20(Pinus,que%20tiene%20potencial%20como%20sustrato.)
- Rubio.E, Bernárdez.A, Bárbaro.L, & Karlanian.M. (Enero de 2024). *Revista Chilena De Ciencias Agrícolas y Animales*. Obtenido de CARBONILLA COMO COMPONENTE DE SUSTRATOS PARA EL CRECIMIENTO DE PETUNIA (*Petunia hybrida*) Y

CALIBRACHOA (Calibrachoa
hybrida) EN MACETAS:
https://www.researchgate.net/publication/387682891_CARBONILLA_COMO_COMPONENTE_DE_SUST

RATOS_PARA_EL_CRECIMIENT
O_DE_PETUNIA_Petunia_hybrida
_Y_CALIBRACHOA_Calibrachoa_
hybrida_EN_MACETAS

37.- Agroalimentos

Efecto de la incorporación de fibras en las características fisicoquímicas, estructurales y sensoriales en yogur probiótico

Autor: Macagno Ludueña, Constanza¹; E. mail: lic.constanzamacagno.l@gmail.com

Co-autores: Beret, María Victoria², Vignatti, Charito Ivana³

Orientadoras: Vénica, Claudia Inés²; E. mail: clauvenica@fiq.unl.edu.ar

Perotti, María Cristina²; E. mail: cperotti@fiq.unl.edu.ar

¹Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB).

²Universidad Nacional del Litoral (UNL), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) / Instituto de Lactología Industrial (INLAIN), Facultad de Ingeniería Química (FIQ).

³Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), Facultad de Ingeniería Química (FIQ).

Resumen

En este trabajo, se evaluó el efecto de la adición de fibras (solubles e insolubles): galactooligosacáridos (G), inulina (I), isomaltulosa (P), arveja (Ar) y avena (Av) en el proceso fermentativo y en parámetros fisicoquímicos, recuentos microbiológicos, perfiles cromatográficos (carbohidratos y ácidos orgánicos), parámetros estructurales (reología, perfil de textura, microestructura) de yogures probióticos incrementados en proteína, y reducidos en grasa y en lactosa. Para los productos con fibras solubles se incluyó un análisis sensorial con consumidores. Los yogures fueron elaborados a escala laboratorio, incluyéndose un control sin fibra (C). Los contenidos de proteínas y de materia grasa fueron similares entre las muestras (6,42 y 1,06 g/100 g, respectivamente), y se obtuvieron recuentos elevados para *S. thermophilus* (> 9,27 log UFC/g) y para los probióticos (> 6 log UFC/g). Se detectaron diferencias en CRA, viscosidad y dureza entre las muestras: en G fue mayor la CRA, en Ar se tuvo el mayor índice de consistencia, viscosidad, esfuerzo de corte y dureza. El contenido de lactosa disminuyó por la acción de la lactasa y el metabolismo de los fermentos, mientras que

la glucosa y galactosa fueron elevadas en todos los tratamientos. No se encontraron diferencias en los ácidos orgánicos, siendo el ácido láctico el mayoritario. Los yogures con fibras solubles tuvieron una aceptabilidad sensorial bien valorada y sin diferencias entre ellos. A pesar de ello, se advirtió una tendencia más favorable hacia el yogur G en cuanto a aceptabilidad, mayores términos positivos asociados a características sensoriales e intención de compra, surgiendo como la fibra más adecuada para incorporar al yogur.

Palabras clave: yogur, fibras, mejora nutricional.

Introducción

La producción de leches fermentadas es uno de los métodos más antiguos para extender la vida útil de la leche. El yogur es la leche fermentada más popular y de mayor consumo a nivel mundial y en Argentina (Aryana y Olson, 2017; www.Ocla.Org.Ar/Portafolio/6/#cbp=/Grafico/10599589). A nivel mundial, se estima que más de 6 mil millones de personas consumen productos lácteos, con una creciente demanda en Asia y América Latina (FAO, 2024). En 2022, el consumo mundial de yogur fue de 5,1 kg/habitante, siendo Europa y Asia-Pacífico las regiones con mayor consumo. Es el segundo producto lácteo más consumido después de la leche (Statista, 2022). Según el Observatorio de la Cadena Láctea Argentina (OCLA), el 3,8% de la producción de leche en Argentina se destina a la elaboración de yogur; en 2019, el consumo de yogur alcanzó los 7 kg/habitante. El Código Alimentario Argentino (CAA) define al yogur como el producto cuya fermentación se realiza con cultivos

protosimbióticos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a los que en forma complementaria pueden acompañar otras bacterias acidolácticas que, por su actividad contribuyen a la determinación de las características del producto terminado. También establece una cantidad mínima de microorganismos viables (1×10^7 UFC/g o mL) en el producto terminado. Su importancia nutricional radica, principalmente, en su contenido de proteínas de alto valor biológico, su aporte de minerales como calcio, fósforo, magnesio y zinc, y vitaminas del grupo B, y además puede tener un impacto positivo en la composición de la microbiota intestinal (Gahruie *et al.*, 2015).

La tecnología de elaboración de yogur presenta algunas diferencias dependiendo de la variedad que se trate, pero consiste básicamente en las siguientes etapas: estandarización de la leche (para yogur batido normalmente se agregan sólidos lácteos como leche en polvo o concentrados de proteínas lácteas en polvo para

aumentar la viscosidad), homogeneización, tratamiento térmico, enfriamiento (hasta la temperatura óptima de desarrollo del fermento), inoculación del fermento, fermentación (hasta pH 4,70-4,75), enfriamiento, agitación, envasado y almacenamiento refrigerado (Tamime y Robinson, 2007).

La leche y los productos lácteos son alimentos exentos de fibras, por lo que la inclusión de este nutriente durante la manufactura y la valoración del impacto en el proceso fermentativo y en la calidad del alimento, es una temática de investigación muy actual y en constante estudio, debido al interés por los consumidores en alimentos que aporten beneficios más allá de su rol nutritivo intrínseco.

La fibra dietaria (FD) que se define como las partes comestibles de plantas o carbohidratos análogos resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso (AACC, 2001), ha ganado popularidad en los últimos tiempos para la formulación de alimentos dado los múltiples efectos positivos asociados (Dhingra *et al.*, 2012; Anderson *et al.*, 2009). Además, algunos de estos componentes se destacan por poseer rol prebiótico (como es el caso de los GOS e inulina): inhiben la proliferación de bacterias patógenas protegiendo de infecciones, y al ser fermentados en el colon ejercen efectos positivos (prevención de diarreas, mejora

de la tolerancia a la lactosa, alivio de la constipación, incremento de la absorción de calcio, etc.) (Lam y Cheung, 2013; Sangwan *et al.*, 2011; Park y Oh, 2010). Dentro de este grupo de compuestos funcionales, la isomaltulosa (o palatinosa), disacárido de glucosa y fructosa, es un carbohidrato emergente obtenido por un proceso de reordenamiento enzimático a partir de la sacarosa (α -1,2 a α -1,6). Se lo recomienda como un ingrediente funcional para lácteos, además de bebidas y barras de cereal, por poseer la mitad del poder edulcorante de la sacarosa, bajo índice glicémico y no ser cariogénico (Shyama *et al.*, 2018; Ruiz-Aceituno *et al.*, 2018; Sawale *et al.*, 2017). Si bien este compuesto no está actualmente reconocido como prebiótico, se reporta como un potencial prebiótico (ISAPP, 2021). Además, los subproductos que se obtienen del procesamiento de frutas, vegetales o cereales son considerados novedosos y valiosos materiales por su alto contenido de FD y por sus propiedades tecno-funcionales únicas, como su habilidad para enlazar agua, convirtiéndolos en ingredientes ideales para modificar textura (emulsionantes, espesantes, agentes de carga) (Hasani *et al.*, 2017; McCann *et al.*, 2011).

Por otra parte, el aumento del contenido proteico también representa una estrategia de interés para magnificar las propiedades nutricionales del yogur, aumentando la disponibilidad de aminoácidos plasmáticos

para la formación de masa muscular. Las dietas altas en proteínas son beneficiosas para la regulación glicémica, para el sistema óseo y, además, tienen un efecto mayor en la saciedad que las grasas o carbohidratos por lo que favorece en el control del peso (Jørgensen *et al.*, 2019; Pasiakos, 2015). Los niveles de proteínas en yogur pueden ser incrementados empleando distintas estrategias tecnológicas; entre ellas, la incorporación de proteína de suero a través de ingredientes en polvo es ampliamente utilizada (Jørgensen *et al.*, 2019).

En particular, la reducción del contenido de materia grasa en el yogur es beneficiosa considerando el efecto adverso de las grasas saturadas y el colesterol en el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (obesidad, diabetes, entre otras) (Grosso *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017). Hay que tener en cuenta que la reducción de la grasa se asocia a un yogur con un flavor y textura pobres y desarrollo de sinéresis (Lee y Lucey, 2010). La grasa láctea desempeña un rol crucial como carrier y fuente de moléculas aromáticas, contribuyendo al desarrollo de flavor a través de los procesos bioquímicos que ocurren durante la fermentación y también otorgan cremosidad (MacGibbon y Taylor, 2006). Para mitigar estos inconvenientes, diversos autores han propuesto como alternativas el agregado de ingredientes de diferente naturaleza química que actúan como sustitutos de grasa (efecto “relleno”),

tales como fibras, espesantes, fermentos productores de exopolisacáridos (EPS), entre otros (Kelly, 2019; O’Sullivan y O’Mahony, 2016; Smithers, 2015; Brandelli *et al.*, 2015).

Por otro lado, la reducción de lactosa en yogur también es relevante, principalmente para las personas con intolerancia a la lactosa, aunque estos productos son adecuados para todos. La intolerancia a la lactosa es un síndrome clínico que se manifiesta con síntomas como diarrea, distensión abdominal, náuseas y flatulencias tras el consumo de lactosa, debido a la deficiencia de lactasa (Malik y Panuganti, 2023). Si bien existen varias metodologías para reducir la lactosa en los productos lácteos, la adición de enzima β -galactosidasa es una de las metodologías mayormente empleadas (Vénica *et al.*, 2015; Sangwan *et al.*, 2011).

En sintonía con lo expuesto, el desarrollo de yogures con mejor perfil nutricional, más funcionales y con propiedades benéficas acrecentadas, es una temática de trabajo actual (García-Burgos *et al.*, 2020).

Objetivos

En el presente trabajo, se evaluó el efecto de la incorporación de fibras, tres de ellas solubles: inulina (I), GOS (G) e isomaltulosa (P) y dos insolubles: avena (Av) y arveja (Ar), en el proceso fermentativo y en los parámetros fisicoquímicos, recuentos microbiológicos, perfiles cromatográficos

(carbohidratos y ácidos orgánicos), parámetros estructurales y sensoriales de yogures probióticos, incrementados en proteína y reducidos en grasa y lactosa.

Materiales y Métodos

Materiales: leche UAT parcialmente descremada y leche en polvo descremada (LPD, ilolay, Argentina), concentrado de proteínas de suero al 35% (WPC, Milkaut S. A., Argentina), enzima β -galactosidasa (Shusei Company Limited, Japón), fermento comercial liofilizado (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*) (ABY-11, Chr. Hansen, Dinamarca). Las fibras comerciales fueron: GOS (G) (Friesland Campina, Países Bajos), inulina (I) e isomaltulosa (o palatinosa) (P) (Beneo, Alemania), arveja (Ar) (Grupo Saporiti, Argentina), avena (Av) (J. Rettenmaier & Söhne, Alemania).

Esquema de elaboración: se elaboraron a escala laboratorio (500 g) tres réplicas de los yogures con fibras (denominados G, I, P, Av y Ar) y el yogur control (C) (sin fibras). Se usó el protocolo optimizado por Vénica *et al.* (2019), con algunas modificaciones. La leche base se preparó agregando a la leche UAT, los sólidos lácteos (LPD y WPC), y los ingredientes fuente de fibra (2%). La mezcla se hidrató a 5 °C por 18 h. Luego, la leche base se calentó a 85 °C/20 min., se enfrió a 42 °C, se inoculó con el fermento (dosis recomendada por el proveedor) y en

simultáneo se incorporó la enzima. La fermentación se llevó adelante a 42 ± 1 °C hasta alcanzar un valor de pH de 4,70-4,75 (aprox. 4 h), luego se procedió al enfriado del yogur hasta 25 °C y finalmente los frascos se agitaron y se almacenaron en refrigeración (5 °C) durante 28 días. Se analizó la composición fisicoquímica [pH, acidez titulable (AT), contenidos de grasas, proteínas, cenizas, sólidos totales (ST)] y el perfil de carbohidratos y ácidos orgánicos en las leches base. A los días 1, 14 y 28 se realizaron mediciones de pH, AT y recuentos microbianos. Asimismo, al día 28, se analizó la capacidad de retención de agua (CRA), el perfil de carbohidratos y ácidos orgánicos, la reología, el perfil de textura (TPA) y la microestructura.

Según los resultados obtenidos, se seleccionaron las formulaciones con agregado de fibras solubles (G, I y P) y el yogur control, para llevar a cabo elaboraciones de 2700 g que se destinaron a un análisis sensorial con consumidores.

Determinaciones analíticas:

pH y AT: el pH se midió con pHmetro digital Orion3-Star Benchtop (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) y la AT se determinó por titulación con NaOH N/9 (1 °Dornic = 1 mg ácido láctico/10 mL o 10 g) (Tritando Dosino, Metrohm, Switzerland) (IDF-FIL, 150:2012).

Composición química y microbiología: se determinaron ST por secado en estufa a 102 ± 1 °C (IDF-FIL, 151:2005), el contenido

de materia grasa por el método butirométrico de Gerber (IDF-FIL, 1996), proteínas por método de Kjeldhal (IDF-FIL, 020-1/2:2001) y las cenizas por incineración en mufla (AOAC, 945.46-1945).

Los recuentos de *Bifidobacterium* se realizaron en MRS agar (Biokar, Beauvais, Francia) suplementado con 0,2% (p/v) de cloruro de litio y 0,3% (p/v) de propionato de sodio, y se incubó a 37 °C durante 72 h, en condiciones de anaerobiosis (Anaeropack-Anaero; Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc., Japón) (Vinderola y Reinheimer, 2000). *L. acidophilus* se determinó en MRS agar suplementado con 0,15% de sales biliares, a 37 °C durante 72 h (Mortazavian *et al.*, 2007) y *S. thermophilus* se cuantificó en agar M17 (Biokar, Francia), y se incubó a 37 °C durante 48 h.

CRA: se determinó por pesada del suero liberado (S) luego de la centrifugación de la muestra de yogur (Y) en condiciones estandarizadas (20 °C/5000 g/10 min) y se expresó según: $CRA (\%) = [(Y-S)/(Y)] \times 100$ (Vénica *et al.*, 2019).

Concentración de carbohidratos y ácidos orgánicos: la concentración de lactosa, glucosa y galactosa y de los ácidos láctico, cítrico, acético, orótico e hipúrico, se determinaron por cromatografía líquida con detección de índice de refracción (IR) y ultravioleta (UV), respectivamente (HPLC-IR/UV) (Vénica *et al.*, 2014; Vénica *et al.*, 2015), en la leche base y en el yogur. Los resultados se expresaron en g/100 g para

los carbohidratos y en mg/100 g para los ácidos orgánicos.

Reología: se obtuvieron las curvas de flujo (esfuerzo de corte vs. velocidad de corte) y viscosidad dinámica (viscosidad aparente vs. velocidad de corte) por reometría rotacional con geometría de cilindros concéntricos a temperatura controlada (10±0,1 °C) (HAAKE MARS 40, Thermo Scientific, USA). Las curvas de flujo fueron obtenidas a velocidad de corte ascendente (0-300 1/s) y descendente (300-0 1/s). La viscosidad aparente (η_{ap} , Pa·s) se calculó a una velocidad de corte de 50 1/s considerada como un valor aproximado al que se alcanza en la boca durante la masticación (Bourne, 2002).

Perfil de textura: se evaluó mediante un ensayo de doble compresión con un texturómetro TA.XT Plus Stable Microsystems utilizando una celda de carga de 5 kg. Cada muestra contenida en un vial (altura, 6 cm; diámetro, 3 cm) hasta una altura de 3 cm se analizó empleando una sonda cilíndrica de 14,3 mm de diámetro con una fuerza de contacto de 0,5 g a una velocidad de 2 mm/s con un tiempo de espera de 5 s entre el primer y segundo ciclo y un nivel de deformación de 30% respecto a la altura inicial de la muestra. Se utilizó el software Exponent para determinar los parámetros: dureza (g), adhesividad (g·s), elasticidad (adimensional), cohesividad (adimensional) y gomosidad (adimensional) (Vénica *et al.*, 2019).

Microestructura: se estudió mediante microscopía confocal láser de barrido (CLSM) con un microscopio confocal invertido (Leica TCS SP8, Alemania). Se utilizó Rhodamina B como fluoróforo para la tinción de la proteína. La muestra de yogur se diluyó en agua destilada (1:1), y una gota fue dispuesta en un portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos. Se observó con un lente objetivo 63x en seco a una longitud de onda de excitación de 568 nm. Numerosos campos fueron observados y se obtuvieron micrografías típicas (Brüls *et al.*, 2024).

Análisis sensoriales con consumidores: se reclutaron un total de 87 consumidores entre 18 y 65 años, representando las mujeres un 60%. Se realizó un ensayo afectivo de aceptabilidad utilizando una escala hedónica de nueve puntos desde 9 = me gusta muchísimo hasta 1 = me disgusta muchísimo (Ares *et al.*, 2017), y se empleó la metodología *marque todo lo que aplique* (CATA, *Check All That Apply*) con 20 términos relacionados con las características sensoriales de los yogures: dulce, brillante, ácido, opaco, sabor extraño, denso, homogéneo, fácil de beber, amargo, desagradable, grumoso, saludable, suave, cremoso, agradable, áspero, líquido, heterogéneo, espeso y difícil de beber. Se solicitó a los participantes que marcaran todos los términos que consideraran apropiados para describir cada tipo de yogur. Para vincular la información de la pregunta CATA con la de aceptabilidad, se

realizó un Análisis de Penalización, solo con aquellas palabras que fueron aplicadas por al menos el 20% de los consumidores (Varela y Ares, 2014). Finalmente, se les consultó si estarían dispuestos o no a comprar el producto.

Análisis estadístico: se aplicó ANOVA de una vía ($p < 0,05$) para determinar si existen diferencias significativas en los parámetros evaluados, seguido de un test de comparaciones múltiples (Tukey) para comparar las medias. Se empleó el *software* SPSS 10.0 (IBM, USA).

Resultados y Discusión

Composición fisicoquímica y microbiológica: las fermentaciones de los yogures demoraron entre 4,00 y 4,33 h en alcanzar el pH final. En las leches bases, los valores de pH y de AT fueron similares, estuvieron en el rango de 6,52 a 6,60 y de 26,14 a 28,85 °D, respectivamente. En la Tabla 1 se observan los valores de composición de los yogures desarrollados a partir de los análisis realizados en las leches bases, es decir, antes del proceso de fermentación láctica. Si bien durante la fermentación se producen transformaciones bioquímicas, como la hidrólisis parcial de la lactosa a glucosa y galactosa y la formación de ácidos orgánicos, entre otros compuestos de aroma/sabor, y cambios en la estructura proteica, éstas no alteran sustancialmente la composición global del producto. Los contenidos de proteínas y de

materia grasa fueron similares entre los yogures con promedios de 6,42 g/100 g y 1,06 g/100 g, respectivamente. El elevado contenido de proteína se debió al enriquecimiento proteico del producto por la incorporación de los sólidos lácteos (WPC y LPD). Los reducidos niveles de grasas, cumplieron con el objetivo de reducción lipídica (CAA, Cap. VIII). Se observaron diferencias ($p < 0,05$) en los contenidos de cenizas y de ST. El yogur C presentó el menor contenido de cenizas y el yogur Av tuvo el mayor valor, y los demás yogures presentaron valores intermedios. El yogur C presentó el menor valor de ST, seguido por los yogures I, Av, P y Ar con valores intermedios, y el yogur G tuvo el valor más elevado.

Los valores de pH, AT y recuentos microbianos de los yogures se observan en la Tabla 2. Durante el almacenamiento refrigerado, el pH disminuyó y la AT aumentó ($p < 0,05$) en todos los productos, este comportamiento es esperable en alimentos fermentados debido a la producción de ácidos orgánicos, principalmente láctico, durante el almacenamiento. Los recuentos de *S. thermophilus* se mantuvieron estables y en niveles elevados ($> 9,27 \log \text{ UFC/g}$), mientras que los recuentos de *L. acidophilus* y *Bifidobacterium* disminuyeron ($p < 0,05$) a los 14 o 28 días, según el tipo de yogur; sin embargo, la suma de los recuentos de *L. acidophilus* y

Bifidobacterium se mantuvieron en valores adecuados para considerar a los yogures como probióticos según el CAA (niveles mayores a 6 log UFC/g) (CAA, Cap. XVII). No se detectaron diferencias en los valores de estos parámetros entre los yogures a cada tiempo de muestreo (1, 14 y 28 días). Dabija *et al.* (2018) no encontraron efecto del agregado de fibras (inulina, avena, poroto y trigo) en el pH de los yogures en relación al yogur sin agregado.

Los probióticos empleados en este trabajo, que forman parte del fermento se encuentran entre los microorganismos más populares que se incorporan al yogur (Hadjimbei *et al.*, 2022). Sin embargo, trabajos que reporten el efecto de las fibras empleadas en este trabajo en la viabilidad de estos microorganismos son escasos. Si bien se tuvo una disminución entre 1 y 2 órdenes logarítmicos, la supervivencia de estos microorganismos durante el almacenamiento refrigerado fue satisfactoria, siendo los valores los recomendados para ejercer los beneficios reportados para alimentos con probióticos (Hadjimbei *et al.*, 2022). Otros autores han mencionado una disminución de viabilidad de hasta 3 órdenes logarítmicos en yogures probióticos empleados junto con ingredientes prebióticos (fibra soluble de maíz, povidexrosa e inulina) a un nivel del 5% (Allgeye *et al.*, 2010).

Tabla 1. Composición de los yogures desarrollados (g/100 g de producto) (medias $\pm$ desviación estándar, n=3).

Yogur	Proteínas	Grasas totales	Cenizas	Sólidos totales
C	6,30 $\pm$ 0,01 ^a	1,06 $\pm$ 0,09 ^a	1,20 $\pm$ 0,04 ^b	18,60 $\pm$ 0,26 ^c
Av	6,55 $\pm$ 0,09 ^a	1,16 $\pm$ 0,29 ^a	1,33 $\pm$ 0,06 ^a	20,46 $\pm$ 0,32 ^b
Ar	6,55 $\pm$ 0,23 ^a	1,24 $\pm$ 0,35 ^a	1,30 $\pm$ 0,03 ^{ab}	20,65 $\pm$ 0,34 ^b
I	6,36 $\pm$ 0,11 ^a	0,99 $\pm$ 0,00 ^a	1,25 $\pm$ 0,03 ^{ab}	20,38 $\pm$ 0,29 ^b
G	6,26 $\pm$ 0,01 ^a	0,98 $\pm$ 0,01 ^a	1,24 $\pm$ 0,07 ^{ab}	21,61 $\pm$ 0,30 ^a
P	6,51 $\pm$ 0,07 ^a	0,93 $\pm$ 0,08 ^a	1,24 $\pm$ 0,03 ^{ab}	20,52 $\pm$ 0,14 ^b

Valores con distintos superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre los yogures para el parámetro analizado.

Tabla 2. Valores de pH, acidez titulable (AT) y recuentos microbianos en los yogures durante el almacenamiento (5 °C) (medias $\pm$ desviación estándar, n=3).

Yogur	Tiempo (días)	pH	AT (°D)	St (log UFC/g)	La (log UFC/g)	B (log UFC/g)
C	1	4,92 $\pm$ 0,10 ^a	103,06 $\pm$ 2,87 ^b	9,38 $\pm$ 0,06 ^a	7,25 $\pm$ 0,11 ^a	7,98 $\pm$ 0,10 ^a
	14	4,52 $\pm$ 0,09 ^b	121,35 $\pm$ 5,21 ^a	9,42 $\pm$ 0,11 ^a	6,96 $\pm$ 0,16 ^a	7,24 $\pm$ 0,17 ^a
	28	4,46 $\pm$ 0,09 ^b	129,65 $\pm$ 5,98 ^a	9,27 $\pm$ 0,13 ^a	5,62 $\pm$ 0,44 ^b	5,90 $\pm$ 0,42 ^b
Av	1	4,87 $\pm$ 0,08 ^a	105,80 $\pm$ 3,36 ^b	9,43 $\pm$ 0,09 ^a	7,22 $\pm$ 0,10 ^a	7,90 $\pm$ 0,12 ^a
	14	4,61 $\pm$ 0,02 ^{ab}	126,11 $\pm$ 6,18 ^a	9,48 $\pm$ 0,06 ^a	6,96 $\pm$ 0,10 ^a	7,16 $\pm$ 0,19 ^{ab}
	28	4,35 $\pm$ 0,17 ^b	136,85 $\pm$ 5,72 ^a	9,40 $\pm$ 0,13 ^a	6,29 $\pm$ 0,38 ^b	5,92 $\pm$ 0,68 ^b
Ar	1	4,92 $\pm$ 0,13 ^a	100,15 $\pm$ 10,91 ^b	9,39 $\pm$ 0,13 ^a	7,37 $\pm$ 0,15 ^a	8,14 $\pm$ 0,73 ^a
	14	4,60 $\pm$ 0,19 ^{ab}	121,46 $\pm$ 9,65 ^{ab}	9,36 $\pm$ 0,05 ^a	6,50 $\pm$ 0,40 ^b	7,05 $\pm$ 0,13 ^{ab}
	28	4,50 $\pm$ 0,08 ^b	129,83 $\pm$ 5,04 ^a	9,27 $\pm$ 0,24 ^a	5,91 $\pm$ 0,36 ^b	6,06 $\pm$ 0,80 ^b
I	1	4,89 $\pm$ 0,09 ^a	102,87 $\pm$ 5,63 ^b	9,40 $\pm$ 0,06 ^a	7,26 $\pm$ 0,15 ^a	7,93 $\pm$ 0,14 ^a
	14	4,73 $\pm$ 0,09 ^a	122,40 $\pm$ 5,93 ^a	9,49 $\pm$ 0,02 ^a	6,99 $\pm$ 0,22 ^a	7,05 $\pm$ 0,15 ^a
	28	4,48 $\pm$ 0,11 ^b	130,56 $\pm$ 6,39 ^a	9,41 $\pm$ 0,10 ^a	6,45 $\pm$ 0,21 ^b	5,45 $\pm$ 0,57 ^b
G	1	4,87 $\pm$ 0,05 ^a	101,45 $\pm$ 0,55 ^b	9,44 $\pm$ 0,04 ^{ab}	7,25 $\pm$ 0,04 ^a	7,84 $\pm$ 0,22 ^a
	14	4,52 $\pm$ 0,06 ^b	120,39 $\pm$ 3,41 ^a	9,49 $\pm$ 0,06 ^a	7,00 $\pm$ 0,09 ^a	6,63 $\pm$ 0,39 ^{ab}
	28	4,51 $\pm$ 0,14 ^b	127,81 $\pm$ 4,46 ^a	9,36 $\pm$ 0,04 ^b	6,28 $\pm$ 0,41 ^b	5,44 $\pm$ 0,65 ^b
P	1	4,88 $\pm$ 0,06 ^a	103,19 $\pm$ 1,57 ^b	9,49 $\pm$ 0,11 ^a	7,32 $\pm$ 0,12 ^a	7,91 $\pm$ 0,14 ^a
	14	4,57 $\pm$ 0,09 ^b	122,55 $\pm$ 5,80 ^{ab}	9,48 $\pm$ 0,02 ^a	7,03 $\pm$ 0,12 ^a	7,10 $\pm$ 0,14 ^b
	28	4,50 $\pm$ 0,11 ^b	132,57 $\pm$ 11,48 ^a	9,40 $\pm$ 0,18 ^a	6,00 $\pm$ 0,59 ^b	5,60 $\pm$ 0,37 ^c

St: *S. thermophilus*; La: *L. acidophilus*; B: *Bifidobacterium*.

No se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre los yogures para cada tiempo de muestreo. Valores con distintos superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) para cada yogur, con respecto al tiempo de almacenamiento.

Perfil de carbohidratos y ácidos orgánicos: en las leches bases se detectaron algunas diferencias ($p < 0,05$) en los niveles de carbohidratos debido a la adición de las fibras. Los mayores niveles de lactosa y glucosa se obtuvieron para la formulación G (10,00 y 0,64 g/100 g, respectivamente),

seguidos por la formulación I (9,11 y 0,33 g/100 g, respectivamente), las demás formulaciones no se diferenciaron (contenidos medios de 8,87 g/100 g y no detectado, respectivamente). La galactosa fue mayor en I (0,42 g/100 g) seguida de G (0,10 g/100 g) y las demás formulaciones

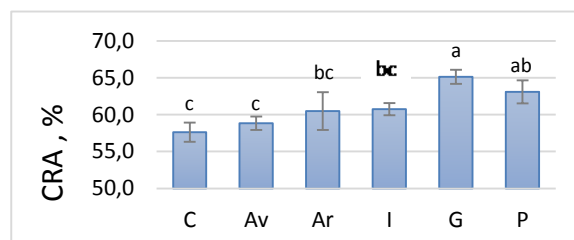
tuvieron valores bajos y similares entre sí (0,05 g/100 g). Los ácidos orgánicos no se diferenciaron entre las leches bases.

En los yogures a los 28 días, se detectaron diferencias ($p < 0,05$) en los niveles de lactosa. El yogur G tuvo el mayor valor (2,15 g/100 g) respecto al resto de los yogures que no se diferenciaron entre sí (valor promedio de $1,42 \pm 0,06$ g/100 g). En cuanto a las concentraciones de glucosa, se observó que las muestras I y G presentaron valores más elevados ($p < 0,05$) ($3,42 \pm 0,18$ g/100 g y $3,85 \pm 0,15$ g/100 g, respectivamente), en comparación con el resto de las formulaciones que no difirieron entre sí (valor medio $3,05 \pm 0,06$ g/100 g). Los niveles de galactosa fueron similares entre los productos (3,12–3,55 g/100 g). La reducción de lactosa, debido principalmente al proceso de hidrólisis por la enzima adicionada pero también al proceso fermentativo, se encontró en el rango de 78 a 83%, de esta manera los yogures fueron reducidos en lactosa según lo establecido por el CAA (CAA, Cap. XVII). Similares reducciones en el nivel de lactosa fueron obtenidas por Vénica *et al.* (2016) en yogures con inulina y *L. acidophilus*.

En relación al contenido de ácidos orgánicos, no se observaron diferencias entre los yogures a los 28 días. El láctico es el principal ácido producido por las bacterias lácticas y el que se encontró mayoritariamente en los yogures (1649,00–1753,67 mg/100 g). El cítrico es el segundo

ácido mayoritario (370,28–388,35 mg/100 g) y está presente naturalmente en la leche y por lo tanto en los ingredientes utilizados. El tercer ácido detectado fue el acético (26,34–33,62 mg/100 g), que es generado por el metabolismo de las bifidobacterias que fueron incorporadas con el fermento. Finalmente, los ácidos orótico (9,73–10,00 mg/100 g) e hipúrico (1,49–1,71 mg/100 g) fueron minoritarios.

CRA: la incorporación de fibras influyó en la CRA ya que se observaron diferencias ($p < 0,05$) entre los yogures a los 28 días (Figura 1). Los yogures C y Av presentaron los valores más bajos ($57,62 \pm 1,30\%$ y $58,84 \pm 0,90\%$, respectivamente), mientras que G registró el valor más alto ($65,12 \pm 0,94\%$).



Las barras indican los valores medios $\pm$ desviación estándar, $n=3$. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre los yogures.

Figura 1. Capacidad de retención de agua (CRA) de los yogures a los 28 días (5 °C).

La CRA es un indicador de la capacidad de retener el suero en la estructura del gel de yogur. La expulsión de suero (sinéresis) en el yogur es percibida negativamente por los consumidores, quienes generalmente lo asocian con cambios adversos en la calidad (Brodziak *et al.*, 2020). El valor más elevado

en G pudo haber estado relacionado con el mayor contenido de ST que presentó este yogur. Dabija *et al.* (2018) encontraron menor sinéresis en el yogur con fibra de arveja respecto a los yogures con agregado de inulina, fibras de trigo y avena.

Reología: los resultados de los parámetros reológicos de los yogures se muestran en la Tabla 3. Se observaron diferencias ($p < 0,05$) en los tres parámetros medidos.

Tabla 3. Índice de consistencia (k), viscosidad aparente (η_{ap}) y esfuerzo de corte (σ) a 50 1/s de velocidad de corte, de los yogures a los 28 días (5 °C) (medias $\pm$ desviación estándar, $n=3$).

Yogur	k (Pa·s)	η_{ap} a 50 1/s (Pa·s)	σ a 50 1/s (Pa)
C	35,14 $\pm$ 9,32 ^{ab}	1,85 $\pm$ 0,21 ^{ab}	92,57 $\pm$ 10,27 ^{ab}
Av	18,56 $\pm$ 4,38 ^b	1,27 $\pm$ 0,22 ^c	63,53 $\pm$ 10,88 ^c
Ar	52,21 $\pm$ 3,60 ^a	2,32 $\pm$ 0,02 ^a	116,25 $\pm$ 0,78 ^a
I	25,18 $\pm$ 2,72 ^b	1,62 $\pm$ 0,07 ^{bc}	80,99 $\pm$ 3,61 ^{bc}
G	18,95 $\pm$ 0,66 ^b	1,44 $\pm$ 0,03 ^{bc}	72,27 $\pm$ 1,41 ^{bc}
P	25,10 $\pm$ 3,69 ^b	1,66 $\pm$ 0,14 ^{bc}	83,10 $\pm$ 7,18 ^{bc}

Valores con distintos superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre los yogures.

El yogur Ar mostró el mayor índice k y los yogures Av, G, I y P tuvieron el menor valor, C presentó valores intermedios sin diferenciarse de los demás productos. La η_{ap} y el σ a 50 1/s de velocidad de corte tuvieron un comportamiento similar; el mayor valor se observó en el yogur Ar y el menor en el yogur Av, C no se diferenció de G, I y P, pero fue mayor que Av. Mediante estos resultados se puede interpretar que el yogur con fibra de arveja presentó mayor consistencia e indicios de ser un gel más fuerte que el del resto de los yogures. Esto

puede deberse a las características de la fibra empleada en combinación con la matriz proteica. Dabija *et al.* (2018) encontraron mayor viscosidad en yogur con la fibra de trigo respecto a los otros yogures (con agregado de inulina y fibras de avena y poroto).

TPA: los parámetros calculados a partir del perfil de textura de los yogures se observan en la Tabla 4. Las incorporaciones de las fibras no modificaron los parámetros de elasticidad y cohesividad. Por otro lado, el yogur Ar tuvo los mayores valores ($p < 0,05$) de dureza y gomosidad y menores valores ($p < 0,05$) de adhesividad, respecto a los otros yogures que no se diferenciaron entre sí.

Microestructura: las micrografías obtenidas por CLSM se muestran en la Figura 2. Se pueden observar algunas diferencias en la organización de la red proteica. En los yogures Av, Ar, I y P se aprecian algunos aglomerados proteicos de mayor tamaño inmersos en una red proteica bastante regular. Esto puede deberse a que los ingredientes de fibra se encuentren rodeados por la proteína y de esta manera se inserten en la matriz proteica del yogur. La matriz del yogur C muestra agregados proteicos y espacios intersticiales de tamaño regular; el yogur G presenta características similares. Una microestructura particular se observa en el yogur I, donde prácticamente no se

detectan poros y la red proteica parece más interconectada que en los otros productos. Análisis sensoriales: se realizó a los yogures con fibras solubles (G, I y P) y al yogur C dado que los productos con agregado de fibras insolubles presentaron arenosidad y sabores extraños. Los puntajes de aceptabilidad en los yogures se observan en la Figura 3. No se encontraron

diferencias en los mismos para los diferentes yogures, los puntajes se hallaron entre 5,53 y 6,20. Estos resultados permiten concluir que la incorporación de fibras solubles no afectó negativamente la aceptabilidad sensorial del yogur, siendo todas las formulaciones igualmente bien valoradas por los consumidores.

Tabla 4. Parámetros del perfil de textura de los yogures a los 28 días (5 °C) (medias $\pm$ desviación estándar, n=3).

Yogur	Dureza (g)	Adhesividad (g·s)	Elasticidad (adimensional)	Cohesividad (adimensional)	Gomosidad (adimensional)
C	16,31 $\pm$ 1,43 ^b	-21,18 $\pm$ 3,52 ^a	0,95 $\pm$ 0,00 ^a	0,50 $\pm$ 0,00 ^a	8,21 $\pm$ 0,69 ^b
Av	16,51 $\pm$ 1,99 ^b	-24,51 $\pm$ 7,24 ^a	0,95 $\pm$ 0,02 ^a	0,51 $\pm$ 0,01 ^a	8,46 $\pm$ 0,88 ^b
Ar	23,93 $\pm$ 4,25 ^a	-35,43 $\pm$ 5,96 ^b	0,95 $\pm$ 0,01 ^a	0,51 $\pm$ 0,02 ^a	12,10 $\pm$ 1,67 ^a
I	17,26 $\pm$ 1,03 ^b	-17,74 $\pm$ 5,39 ^a	0,96 $\pm$ 0,02 ^a	0,49 $\pm$ 0,01 ^a	8,42 $\pm$ 0,42 ^b
G	16,33 $\pm$ 3,34 ^b	-22,38 $\pm$ 1,04 ^a	0,94 $\pm$ 0,01 ^a	0,52 $\pm$ 0,01 ^a	8,39 $\pm$ 1,51 ^b
P	15,76 $\pm$ 1,73 ^b	-17,22 $\pm$ 2,15 ^a	0,96 $\pm$ 0,01 ^a	0,49 $\pm$ 0,02 ^a	7,77 $\pm$ 0,60 ^b

Valores con distintos superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$, test de Tukey) entre los yogures.

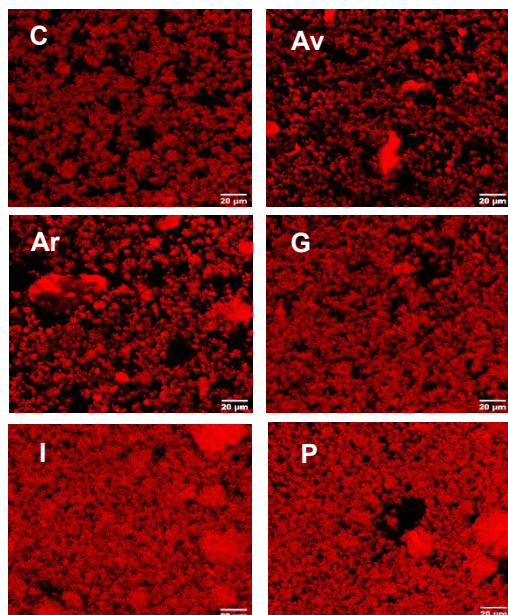
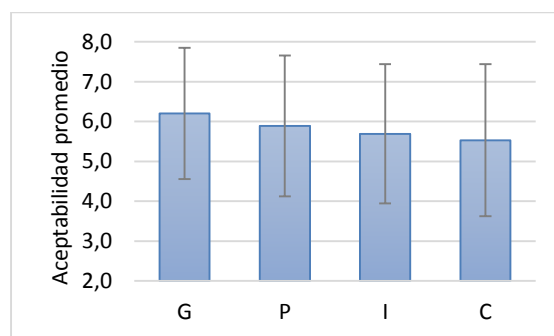


Figura 2. Micrografías obtenidas por CLSM de los yogures a los 28 días (5 °C).



Las barras indican los valores medios $\pm$ desviación estándar. No hubo diferencias ($p > 0,05$) en la aceptabilidad entre los yogures.

Figura 3. Aceptabilidad de yogures con fibras solubles (G, P, I) y control (C).

Con respecto al cuestionario CATA, se encontraron diferencias ($p < 0,05$) entre las formulaciones en cinco atributos: dulce, ácido, homogéneo, grumoso y

heterogéneo, siendo el yogur G el más asociado a características positivas como dulzor y suavidad, pero también a términos negativos como grumosidad, y la muestra C fue la que se percibió menos dulce.

A través del análisis de penalización se observó que los yogures P y G fueron los mejor valorados por su vinculación con términos positivos como dulce, suave, agradable, saludable y brillante, mientras que los yogures C e I se asociaron con descriptores negativos como ácido y sabor extraño. Finalmente, la intención de compra no mostró diferencias entre las muestras evaluadas, indicando que todas fueron potencialmente aceptables para los consumidores. No obstante, se advierte una tendencia favorable hacia el yogur G, que obtuvo el mayor número de respuestas afirmativas ($n = 51$), mientras que el yogur C fue el menos elegido ($n = 37$). Sin embargo, los términos negativos que también se asociaron a la misma hicieron que estadísticamente no se manifestaran diferencias en el gusto de los consumidores para los yogures evaluados (Ilić *et al.*, 2024; Hussain *et al.*, 2022).

Esto se relaciona de manera directa con lo observado para la muestra C, quien fue la que se percibió como “menos dulce” en comparación con P y G ($p < 0,001$); presentando la menor aceptabilidad junto a I (menos dulce que G).

Conclusiones

Frente a una creciente demanda por parte de los consumidores de alimentos con beneficios para la salud, el desarrollo de yogures con mejor perfil nutricional y funcional constituye un área de gran interés para la ciencia y tecnología de alimentos. La incorporación de fibras en yogures probióticos con alto contenido proteico reducidos en grasa y en lactosa, representa un desafío actual para responder a esta demanda.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que es posible desarrollar yogures batidos con incorporación de fibras (solubles e insolubles) sin afectar negativamente el proceso fermentativo ni la viabilidad del fermento probiótico. Sin embargo, algunas diferencias fueron detectadas en la estructura de los yogures. La incorporación de fibras solubles no generó cambios significativos en la aceptabilidad por parte de los consumidores.

Este enfoque podría ser aprovechado por la industria láctea para diversificar su oferta de productos funcionales, respondiendo a las nuevas tendencias de consumo y aportando a la promoción de una alimentación más saludable.

Referencias bibliográficas

Allgeyer, L. C., Miller, M. J., & Lee, S. Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics

- and probiotics. *Journal of dairy science*, 93(10), 4471–4479.
- American Association of Cereal Chemists. (2001). The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 46(3), 112-126.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., & Williams, C. L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188–205.
- AOAC. (1945). AOAC 45.46-1945, Ash of milk. Gravimetric method.
- Ares G., Alcaire F., Antúnez L., Vidal L., Giménez A., & Catsura, J. (2017). Identification of drivers of (dis)liking based on dynamic sensory profiles: Comparison of Temporal Dominance of Sensations and Temporal Check-all-that-apply. *Food Research International*, 92, 79-87.
- Aryana, K. J., & Olson, D. W. (2017). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987-10013.
- Bourne, M. C. (2002). *Food Texture and viscosity: concept and measurement* (2nd Ed). Academic Press, UK.
- Brodziak, A., Król, J., Barłowska, J., Teter, A., & Florek, M. (2020). Changes in the physicochemical parameters of yoghurts with added whey protein in relation to the starter bacteria strains and storage time. *Animals*, 10(8), 1350.
- Brandelli, A., Daroit, D., & Folmer Corrêa, A. (2015). Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Research International*, 73, 149-161.
- Brüls, M., Foroutanparsa, S., Maljaars, C. E. P., Olsthoorn, M., Tas, R. P., & Voets, I. K. (2024). Investigating the impact of exopolysaccharides on yogurt network mechanics and syneresis through quantitative microstructural analysis. *Food Hydrocolloids*, 150, 109629.
- Dabija A., Codină G. G., Gâtlan A.-M., & Rusu L. (2018). Quality assessment of yogurt enriched with different types of fibers. *Journal of Food*, 16:1, 859-867.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–266.
- FAO. (2024). Dairy production and products. Recuperado de <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/es/>
- Hadjimbei, E., Botsaris, G., & Chrysostomou, S. (2022). Beneficial Effects of Yoghurts and Probiotic Fermented Milks and Their Functional Food Potential. *Foods*, 11(17), 2691.
- IDF. (2005). IDF 151:2005. Yoghurt – determination of total solid content (Reference method). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF. (1996). International standard 1D. Determination of fat content-gravimetric method (Rose-Gottlieb reference method). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF. (2001). Idf - milk - Determination of nitrogen content - Part 1/2: Determination of nitrogen content using the Kjeldahl method. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- IDF. (2012). IDF 150:2012. Fermented milks - determination of titratable acidity -

- potenciometric method. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Gahruie, H., Eskandari, M. H., Mesbahi, G., & Hanifpour, M. A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4(1), 1–8.
- García-Burgos, M., Moreno-Fernández, J., Alférez, M., Díaz-Castro, J., & López-Aliaga, I. (2020). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72, 104059.
- Grosso, G., Bella, F., Godos, J., Sciacca, S., Del Rio, D., Ray, S., Galvano, F., & Giovannucci, E. (2017). Possible role of diet in cancer: systematic review and multiple meta-analyses of dietary patterns, lifestyle factors, and cancer risk. *Nutrition Reviews*, 75(6), 405–419.
- Hasani, S., Sari, A., Heshmati, A., & Karami, M. (2017). Physicochemical and sensory attributes assessment of functional low-fat yogurt produced by incorporation of barley bran and *Lactobacillus acidophilus*. *Food Science and Nutrition*, 5, 875–880.
- Hussain, S., Mohamed, A.A., Alamri, M.S., Saleh, A., Ibraheem, M.A., Abdo Gasem, A.A., Shamlan, G., & Ababtain, I.A. (2022). Rheological, textural, and sensory properties of non-fat yogurt containing cress (*Lepidium sativum*) seed gum and various starches. *Food Science and Technology*, 40(1), 1–11.
- Ilić, N., Belović, M., Memiši, N., Pestorić, M., Škrobot, D., Pezo, L., Jevtić-Mučibabić, R., Sanz, Y., & Brouzes, J. (2024). Rheological properties and sensory profile of yoghurt produced with novel combination of probiotic cultures. *Foods*, 13(19), 3021.
- ISAPP (Consensus Statement on the Definition and Scope of Prebiotics), 2021. Prebiotics: A consumer guide for making smart choices.
- Jørgensen, C. E., Abrahamsen, R. K., Rukke, E. O., Hoffmann, T. K., Johansen, A., & Skeie, S. (2019). Processing of high-protein yoghurt – A review. *International Dairy Journal*, 88, 42–59.
- Kelly, P. (2019). *Whey Protein Ingredient Applications. From milk to medicine.* Deeth H., Bansal N. (Eds.), Academic Press, pag. 335-375.
- Lam, K. L., & Cheung, P. C. K. (2013). Non-digestible long chain beta-glucans as novel prebiotics. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2 (1), 45–64.
- Lee, W., & Lucey, J. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 23 (9), 1127–1136.
- Liu, A. G., Ford, N. A., Hu, F. B., Zelman, K. M., Mozaffarian, D., & Kris-Etherton, P. M. (2017). A healthy approach to dietary fats: understanding the science and taking action to reduce consumer confusion. *Nutrition journal*, 16(1), 53.
- McCann, T., Fabre, F., & Day, L. (2011). Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. *Food Research International*, 44, 884–892.
- MacGibbon, A. K., & Taylor, M. W. (2006). *En Advanced Dairy Chemistry. Lipids.* Fox, P., McSweeney, P. (Eds.), Springer, New York, p. 1-35.

- Malik, T.F., & Panuganti, K.K. (2023). Lactose Intolerance. Publicación de StatPearls. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532285/>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. (2023). Capítulo VIII: Alimentos lácteos. En Código Alimentario Argentino. Recuperado de https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_viii_lacteosactualiz_2023-04.pdf
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. (2024). Capítulo XVII: Alimentos de régimen o dietéticos. En Código Alimentario Argentino. Recuperado de https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_xvii_dieteticosactualiz_2024-08.pdf
- Mortazavian, A., Ehsani, M.R., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J. (2007). MRS-bile agar: Its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft*, 62, 270-272.
- Organización de Cámaras de Lechería de Argentina (OCLA). (2024). Portafolio. Recuperado de <https://ocla.org.ar/portafolio/11/>
- O'Sullivan, J., & O'Mahony, J. (2016). En Reference module in food science. Elsevier, Amsterdam, pag. 1-3.
- Park, A.-R., & Oh, D.-K. (2010). Galactooligosaccharide production using microbial β -galactosidase: current state and perspectivas. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1279-1286.
- Pasiakos, S. M. (2015). Metabolic advantages of higher protein diets and benefits of dairy foods on weight management, glycemic regulation, and bone. *Journal of Food Science*, 80(1), A2-A7.
- Ruiz-Aceituno, L., Hernandez-Hernandez, O., Kolida, S., Moreno, F., & Methven, L. (2018). Sweetness and sensory properties of commercial and novel oligosaccharides of prebiotic potential. *LWT - Food Science and Technology*, 97, 476-482.
- Sangwan, V., Tomar, S.K., Singh, R.R.B., Singh, A.K., & Ali, B. (2011). Galactooligosaccharides: Novel components of designer foods. *Journal of Food Science*, 76(4), R103-R111.
- Sawale, P., Shendurse, A., Mohan, M., & Patil G. (2017). Isomaltulose -an alternative of sugar. A review. *Food Bioscience* 18, 46-52.
- Shyama, S., Ramadas, A., & Chang, S. (2018). Isomaltulose: Recent evidence for health benefits. *Foods*, 48, 173-178.
- Smithers, G. W. (2015). Whey-ing up the options – Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal*, 48, 2–14.
- Statista. (2022). Consumo mundial de productos lácteos a nivel mundial, por tipo. Recuperado de <https://es.statista.com/estadisticas/1310411/consumo-mundial-de-producto-lacteos-a-nivel-mundial-por-tipo/>
- Tamime A. Y., & Robinson R. K. (2007), Tamime and Robinson's yoghurt, Science and Technology. Tercera edición. CRC Press, USA.
- Varela P., & Ares G. (2014). Novel techniques in sensory characterization

and consumer profiling. CRC Press, Boca Ratón, FL, US.

Vénica, C. I., Bergamini, C. V., Rebecchi, S., & Perotti, M. C. (2015). Galacto-oligosaccharides formation during manufacture of different varieties of yogurt. Stability through storage. LWT - Food Science and Technology, 63, 198-205.

Vénica, C. I., Perotti, M. C., & Bergamini, C. V. (2014). Organic acids profiles in lactose-hydrolyzed yogurt with different matrix composition. Dairy Science and Technology, 94 (6), 561–580.

Vénica, C. I., Spotti, M. J., Pavón, Y. L., Molli, J. S., & Perotti, M. C. (2019). Influence of carrot fibre powder addition on rheological, microstructure and sensory characteristics of stirred-type yogurt. International Journal of Food Science and Technology, 55(5), 1916–1923.

Vénica C., Wolf I., Bergamini C., & Perotti M. (2016). Influence of lactose hydrolysis on galacto-oligosaccharides, lactose, volatile profile and physicochemical parameters of different yogurt varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96, 4929–4939.

Vinderola, C., & Reinheimer, J. (2000). Enumeration of Lactobacillus casei in the presence of L. acidophilus, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. International Dairy Journal, 10(4), 271–275.

Agradecimientos

Se agradece el aporte de María Soledad Caballero y Leila Pozza, quienes

colaboraron en los análisis fisicoquímicos, así como de Facundo Cuffia y Melisa Puntillo, en los análisis sensoriales y microbiológicos, respectivamente.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada con los proyectos PIBAA 2022-2023 (CONICET) N° 28720210101201CO; CAI+D 2020 (UNL) N° 50620190100097LI; PICT 2020-SerieA (ANPCyT) N° 01506; PIP2021 (CONICET) N° 11220200101216CO.

36. Energía

Revalorización de los subproductos biomásicos de la actividad forestoindustrial de Tucumán

Autor: Martínez, Gabriel²; E. mail: gabrielmartinez@inti.gob.ar

Coautores: Luna, Fernando Exequiel²; E. mail: feluna@inti.gob.ar; Carrazana, David

Emmanuel²; E. mail: dcarrazana@inti.gob.ar

Orientadores: Peralta, Florencia^{1,2}; E. mail: fperalta@inti.gob.ar

Rearte, Martín²; E. mail: mrearte@inti.gob.ar; Gusils, Carlos^{2,3}; E. mail: cgusils@inti.gob.ar

¹Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología – UNT; ²Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI); ³CONICET.

Resumen

En la actividad forestoindustrial de Tucumán se generan importantes volúmenes de residuos forestales como aserrín, viruta, costaneros, despuntes, que por sus características fisicoquímicas pueden ser transformados en materia prima para generación de energía limpia y renovable de alta eficiencia. El objetivo fue realizar una revalorización de los residuos biomásicos del procesamiento de madera forestal en aserraderos. Se realizó un relevamiento de la generación y caracterización (humedad, poder calorífico, contenido de cenizas) de los subproductos provenientes de aserraderos que procesan material forestal. Por un proceso de densificación se transformó la biomasa en un biocombustible sólido denominado pellet, caracterizado según la Norma IRAM ISO 17225-2:2018. El análisis de combustión de pellets se realizó en una estufa residencial bajo lineamientos de la Norma UNE EN 14785:2007. En los aserraderos de la provincia, se consumen 37.652 [m³] de materia prima (79 [%] pino, 20 [%] eucalipto), y se producen 14.773 [m³] de madera con rendimientos aproximados al 40 [%], siendo los subproductos generados aserrín, viruta, despuntes. Con los valores obtenidos de la caracterización de biomásas (<3 [%] ceniza, <25 [%] humedad) y de pellets (8-10 [%] humedad, Q_{neto} 3900 [Kcal/Kg]) califican como biocombustibles según lo indicado en la Norma IRAM ISO 17725. En los ensayos de estufas alimentadas con pellets se obtuvieron valores de gases de combustión (O₂ 13 [%]; CO₂ 5,1 [%]; CO 805 [ppm]), análisis de consumo (1 [Kg/h] de potencia térmica nominal), y de ensayos de seguridad dentro de los parámetros indicados en Norma UNE EN 14785. La densificación es un proceso que permite generar valor agregado a la industrialización del material forestal, pudiendo insertarse en mercados nacionales e internacionales.

Palabras clave: Biomasa, Pellet, Bioenergía, Energías Renovables.

Introducción

El costo y las consecuencias ambientales del uso de combustibles fósiles incentivan la adopción de energías renovables. Entre estas últimas, la energía generada a partir de biomasa puede ser producida y consumida en un ámbito de carbono neutralidad (Andreasi *et al.*, 2022). La biomasa, generada como subproducto secundario a partir de procesos forestales y agroindustriales, es una fuente de energía renovable clave en la transición hacia una matriz energética más sostenible. Su uso como alternativa a los combustibles fósiles presenta dos ventajas: reducción del impacto ambiental asociado a la gestión de desechos y, disminución de la producción de gases de efecto invernadero que conllevan al cambio climático. Estos subproductos presentan dos problemas, su baja densidad y su alto contenido de humedad en su estado natural, generando dificultades para su transporte, almacenamiento y uso como combustible directo para calefacción o combustión.

Los biocombustibles son generalmente más difíciles de quemar que los combustibles fósiles debido a la incompleta e intermitente combustión que ocurre en las estufas y pequeñas calderas. Como consecuencia, los gases de escape contienen una cantidad significativa de sustancias dañinas como el material particulado (MP) y los compuestos orgánicos parcialmente oxidados (Raffaeli, 2022). Los procesos de densificación, como la pelletización, permiten transformar estos subproductos en biocombustibles sólidos, homogéneos que brinden la posibilidad de aprovechar eficientemente su alto poder calorífico.

La transformación de la biomasa al formato pellets (Figura 1) permite utilizar el recurso en equipos de combustión domésticos; aumentando la eficiencia de su transformación en energía térmica útil, y reduciendo las emisiones respecto al uso tradicional de la biomasa. Para lograr este objetivo, además de la tecnología de combustión, se requiere de un combustible que cumpla parámetros de calidad, como baja humedad, y contenido de ceniza, delimitados en la normativa ISO 17225-2.



Fig 1. Pellets de biomasa

Los pellets son cada vez más requeridos para su uso en sistemas de calefacción residencial y para la producción de energía eléctrica. Para usos de escala industrial se utilizan pellets de menor calidad, a diferencia del sector domiciliario que requiere biocombustibles de calidad mayor. En Europa, los pellets de madera son usados principalmente en el segmento residencial, y en la industria de generación eléctrica y de calor, sumando ambos más del 80% del total de los pellets consumidos.

La comercialización de pellets de madera en mercados formales, tanto nacionales como internacionales, se trabaja bajo norma ISO 17225-2, "Biocombustibles sólidos - Especificaciones y clases de combustibles - Parte 2: Clases de pellets de madera". Esta norma, adoptada en Argentina por el Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM) como IRAM-ISO 17225-2, es el estándar de referencia para asegurar la calidad y el rendimiento del producto. La norma clasifica los pellets para uso residencial y comercial en tres categorías principales, cuya diferencia radica fundamentalmente en el origen de la materia prima y, como consecuencia, en su contenido de cenizas:

- **Clase A1:** De calidad más alta. Se produce a partir de madera de fuste y/o residuos de madera no tratados químicamente, con muy bajos contenidos de cenizas y nitrógeno. Es la clase recomendada para estufas y calderas domésticas por su combustión limpia y bajo mantenimiento.
- **Clase A2:** Es la de calidad intermedia. Permite el uso de una gama más amplia de biomasa. Esto resulta en un contenido de cenizas y nitrógeno ligeramente superior al de la clase A1.
- **Clase B:** Es la de la calidad baja. Permite el uso de madera reciclada post-consumo y residuos industriales, siempre que no hayan sido tratados químicamente con compuestos que dejen residuos de metales pesados o halógenos. Esta clase tiene el mayor contenido de cenizas permitido y generalmente se destina a calderas de mayor potencia con sistemas de limpieza más robustos.

Los parámetros técnicos críticos definidos por la norma incluyen: dimensiones, humedad, contenido de cenizas, durabilidad mecánica, poder calorífico neto (Q_{neto}), densidad aparente, entre otros.

En este contexto, en Argentina, se reconoce que el potencial de aprovechamiento energético de la biomasa es bastante mayor a su actual utilización, y para optimizar esa posibilidad es necesario trabajar sobre el diagnóstico, análisis de situación, estudio de mercados, desarrollo y difusión de las tecnologías de uso y su aplicabilidad (FAO D.T. N°19, 2020). En este sentido, los sectores forestales y agroindustriales podrían desempeñar un rol fundamental.

El objetivo de este trabajo fue realizar una revalorización de los residuos biomásicos del procesamiento de madera forestal en aserraderos, para determinar su calidad y potencial de aprovechamiento energético conforme a las normativas internacionales vigentes.

Materiales y métodos

i. Relevamiento bibliográfico de la actividad Industria del aserrado

Se realizó una búsqueda de información en diferentes sitios de internet en temas relacionados con la actividad industrial del aserradero donde se procesan materiales forestales y se obtienen como subproductos, aserrín, costaneros, chips de maderas, entre otros.

ii. Muestreos de biomasa

Los muestreos se realizaron en el marco del acompañamiento del equipo técnico del departamento de energías renovables NOA del INTI siguiendo procedimientos de asistencia técnica y toma de muestras bajo lineamientos ISO 18135:2017 “Muestreo”.

iii. Producción de pellet

Los ensayos de conformado de pellet se realizan en INTI en el área de procesos piloto bajo protocolos adaptados de la Norma ISO 17225 para las diferentes biomasas y mezclas sugeridas para biocombustibles con fines energéticos.

iv. Caracterización fisicoquímica de biomasa y de biocombustible tipo pellets

Todas las determinaciones de caracterización de biomasas y la evaluación de calidad de los productos obtenidos se realizan en el laboratorio de biocombustibles INTI bajo lineamientos de la norma ISO 17725-1 y las complementarias para cada tipo de biocombustibles, en este caso la ISO 17225 parte 2 y parte 6.

v. Ensayo de combustión en estufa

Se realizó en el Banco de Estufas del Laboratorio de Fabricación de DERNOA – INTI (Figura 3, A). Se realizó según Norma UNE 14785:2006, y se empleó una estufa gravimétrica a pellet, realizando ensayos a potencia térmica nominal (PTN) y potencia térmica reducida (PTR).

Desarrollo

Se realizó un estudio comparativo con los resultados informados por Gonzales et al. (2023), quienes emplearon una estufa electrónica, alimentada de forma mecánica al tener un moto reductor acoplado a un tornillo que permite la regulación del ingreso de pellet a la cámara de combustión, y además un ventilador que regula el ingreso de aire para la combustión.

Muestreo de biomasas

Se tomaron muestras de diferentes biomásas provenientes de las actividades forestal y agroindustrial. En la Figura 1, se observan fotos de diferentes tipos de biomásas.



Fig. 1. Fotografías de diferentes tipos de biomásas provenientes de las actividades forestales y agroindustriales recopiladas durante trabajos de asistencia técnica de INTI.

Producción de pellets

La fabricación del pellet requirió, en orden cronológico, los siguientes procesos: (i) obtención de subproducto biomásico de aserraderos; (ii) secado con aire caliente; (iii) molienda; (iv) humectación; (v) densificado (pelletizado); (vi) enfriado y tamizado de finos. Las operaciones fueron realizadas en el Departamento de Energías Renovables NOA (DERNOA) del Instituto de Tecnología Industrial (INTI). En la Figura 2, se observan procesos de pelletizados a pequeña escala y a escala industrial.



Fig. 2. Proceso de pelletizado. A) escala taller; B) escala industrial

Caracterizaciones de biomásas y biocombustibles

En cuanto a las caracterizaciones realizadas en el laboratorio de biocombustibles INTI, de acuerdo con los lineamientos de la Norma IRAM ISO 17725, se puede listar:

- Contenido de humedad [%]
- Contenido de cenizas [%]
- Poder calorífico inferior (Qneto) [Kcal/Kg]
- Contenido de cloro (Cl) [%]

- Contenido de azufre (S) [%]
- Durabilidad mecánica de pellet (DU) [%]
- Densidad aparente (BDa.r.) [Kg/m^3].

Verificación técnica de aparatos de calefacción

Para realizar el estudio comparativo, se adaptó el Banco de Estufas de INTI donde se realizan las verificaciones técnicas de los equipos de calefacción doméstica a pellet. Esta verificación tiene como objetivo validar bajo lineamientos de la Norma UNE EN14785, aspectos referidos al diseño, fabricación, montaje, seguridad, funcionamiento, rendimiento, emisiones e instrucciones de uso de diferentes equipos de combustión de biomasa domestica que utilizan

diversos biocombustibles solidos como ser el pellet de madera, el chip de madera, las briquetas u otros contemplados en la Norma IRAM-ISO17225-2 e ISO17225-6, alimentados mecánicamente o naturalmente y cuya potencia térmica nominal es menor o igual que 50 [kW]. Para el estudio el proceso se inició con el encendido de la estufa hasta alcanzar un régimen de funcionamiento estable, definido cuando la temperatura de los gases de combustión se mantiene con una variación no mayor a 10°C .

Durante los ensayos se realizaron las siguientes determinaciones o controles:

- Concentración de gases de combustión (al 13% de oxígeno),
- Ensayos de seguridad: Durante el ensayo a PTN, se realizó un estudio de termografía.
- Consumo de pellets: se midió la diferencia de peso del combustible consumido en un intervalo de tiempo específico.

La estufa empleada fue de fabricación Nacional cuya característica principal es que posee una alimentación tipo gravimétrica. Esta estufa no funciona con electricidad, por lo tanto, no tiene una alimentación automática ni control de ingreso de aire.

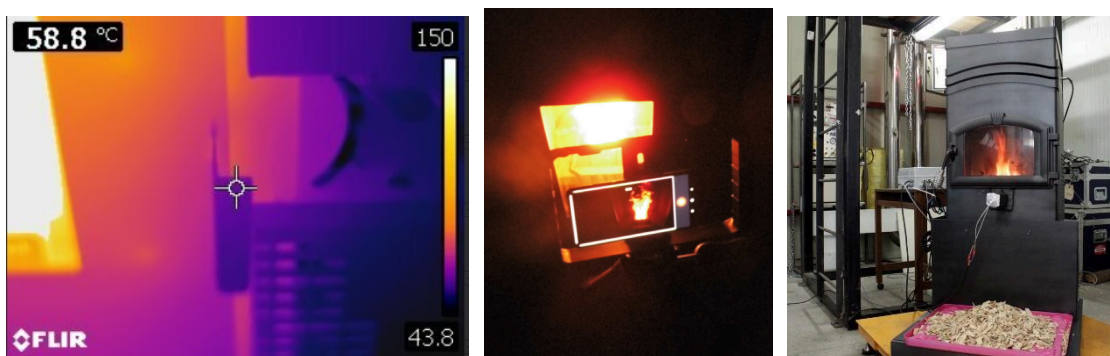


Fig 3. Ej. A) Fotografía termográfica de la parte exterior de la estufa ensayada B) estufa bajo análisis en el BPE (INTI), C) Ejemplo de banco de estufas estándar utilizado en otros estudios (Chile).

Las condiciones en las que trabajaron las estufas, en sus distintas potencias se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones de ensayos de combustión en estufas para PTR y PTN

Condiciones de ensayo para las distintas mediciones de PTR		
Parámetros	Estudio	Gonzales <i>et al.</i> (2023)
Tipo de combustible	Pellet de Pino	Pellet de Pino
Cámara de combustión	Puerta cerrada	Puerta cerrada
Proceso de combustión	Combustión continua	Combustión continua
PTR	Posición 1	Posición 1
Termostato	No	Si
Posición del dispositivo de control		
Aire primario	Posición 1	Posición 1
Aire secundario	No	Si

Condiciones de ensayo para las distintas mediciones de PTN		
Parámetros	Estudio	Gonzales <i>et al.</i> (2023).
Tipo de combustible	Pellet de pino	Pellet de pino
Cámara de combustión	Puerta cerrada	Puerta cerrada
Proceso de combustión	Combustión continua	Combustión continua
PTN	Posición 4	Posición 5
Termostato	No	Si
Posición del dispositivo de control		
Aire primario	Posición 4	Posición 5
Aire secundario	No	Si

Resultados y discusión

Análisis estructural de la industria del aserrado

La materia prima para la producción de pellets proviene directamente de la industria del aserrado de Tucumán. Según datos del Censo Nacional de Aserraderos de 2015, el sector en la provincia está compuesto por 25 establecimientos, con una marcada diferenciación: 19 son microempresas y 6 son pequeñas empresas, sin registrarse aserraderos de tamaño mediano o grande. Esta estructura tiene implicaciones directas en la capacidad de inversión y modernización. Esta obsolescencia tecnológica es una causa directa del bajo rendimiento promedio del sector, que se sitúa en el orden del 39 [%]. Esto significa que por cada 100 [m³] de madera en rollo que ingresan al proceso, 61 [m³] se convierten en subproductos como aserrín, viruta o recortes. Adicionalmente, el sector opera con una considerable capacidad

ociosa, estimada en un 42 [%] a nivel provincial, lo que sugiere un potencial de producción de madera y, consecuentemente, de subproductos, aún no realizado. Geográficamente, la actividad está altamente concentrada: el 80 [%] de los aserraderos se ubican en la Zona Centro-Norte de la provincia, generando el 95 [%] de la producción total (Dirección Nacional de Desarrollo Foresto Industrial, 2022; Mora Alfonsín, 2023).

El rendimiento de la industria se traduce en una generación masiva de subproductos. Con un consumo anual de materia prima de 37.652 [m³] y un rendimiento del 39 [%], se estima un volumen de subproductos (aserrín, viruta, costaneros, despuntes) de aproximadamente 22.222 [m³] por año. Sin embargo, un hallazgo crucial del censo es que "los aserraderos no cuantifican los subproductos generados, y manifiestan que son entregados sin valor, a cambio de la limpieza del predio". Esta práctica revela que los subproductos no son vistos como un activo comercial, sino como un pasivo logístico. Precisamente esta percepción es la que la generación de pellets puede transformar. Al crear una demanda constante y ofrecer un precio por estos materiales, se genera un incentivo económico directo para que los aserraderos comiencen a medir, segregar y gestionar sus subproductos de manera formal, convirtiendo un costo de limpieza en una nueva fuente de ingresos (Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016).

La composición de la materia prima procesada es otro factor determinante. El 87% proviene de especies cultivadas, con un claro predominio del pino (79 [%] de las cultivadas) y el eucalipto (17 [%]). Estas maderas blandas (coníferas) y semiduras son ideales para la peletización por su contenido de lignina y sus propiedades de combustión. El estudio confirma la idoneidad de esta biomasa, con un contenido de cenizas inferior al 3% y una humedad por debajo del 25 [%]. Estos valores son especialmente importantes para la viabilidad del proceso industrial, como se detallará en el trabajo (Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016)

Un análisis de la sostenibilidad del suministro a largo plazo revela una dependencia estructural crítica. Existe una notable discrepancia entre los datos de consumo de la industria reportados en el Censo 2015 (37.652 [m³] de materia prima) y los datos de extracción forestal del Anuario Estadístico Forestal 2024, que indican una extracción de solo 120 [m³] de rollizos en Tucumán para el año 2023 (Tabla 2) (Bono *et al.*, 2024). La conclusión lógica es que la gran mayoría de la madera procesada en Tucumán no se origina en la provincia.

La industria del aserrado tucumana funciona como un polo de procesamiento regional, con las provincias vecinas, principalmente Salta y Jujuy. El censo de 2015 indicó que el 100 [%]

de los rollizos de especies nativas procesados en la provincia provenían de Salta y Jujuy (Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016).

Tabla 2. Análisis de tendencias en la disponibilidad de materia prima, Fuente: Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016).

Parámetros	Valor
Número Total de establecimientos	25
Microempresas ($\leq 940 \text{ m}^3/\text{año}$)	19
Pequeñas Empresas (>940 y $\leq 4,720 \text{ m}^3/\text{año}$)	6
Consumo de Materia Prima	37.652 [m^3]
Producción de Madera Aserrada	14.773 [m^3]
Rendimiento Promedio	39 [%]
Volumen de Subproductos Generados	22,222 [m^3]
Especies Principales (Procesadas)	Pino (79[%]), Eucalipto (20 [%])
Capacidad Instalada Provincial	24,470 [$\text{m}^3/\text{año}$]
Capacidad Ociosa Provincial	42 [%]
Empleo Directo Generado	226 personas

Caracterización de biomásas y pellets

Los resultados obtenidos en la caracterización de biomásas forestales (pino y eucalipto) y agroindustriales (bagazo/residuo agrícola de cosecha - RAC), así como en los biocombustibles sólidos derivados de la densificación los mismos, evidencian un comportamiento consistente con lo reportado en la bibliografía.

Tabla 3. Caracterización fisicoquímica de biomásas y biocombustibles

BIOMASAS					
Parámetros		Unidades	Forestal		Agroindustrial
			Pino	Eucalipto	Bagazo/RAC
Humedad	M	[g/100g b.h.]	49,77 $\pm$ 6,49	52,61 $\pm$ 3,49	11,72 $\pm$ 0,92
Cenizas	A	[g/100g b.s.]	0,32 $\pm$ 0,12		10,83 $\pm$ 2,53
Sólidos volátiles	VM	[g/100g b.s.]	82,40 $\pm$ 6,51		73,99 $\pm$ 10,73
Carbono fijo	FC	[g/100g b.s.]	17,33 $\pm$ 0,80		16,04 $\pm$ 9,00
Poder calorífico superior	PCS	[Kcal/Kg b.s.]	4738,03 $\pm$ 366,80	4620,56 $\pm$ 153,06	3917,25 $\pm$ 214,68
Poder calorífico inferior	PCI	[Kcal/Kg b.h.]	1954,81 $\pm$ 191,22	1721,20 $\pm$ 188,99	3880,25 $\pm$ 214,35
Cloro	Cl	[g/100g b.s.]	<0,01		0,51 $\pm$ 0,06
Azufre	S	[g/100g b.s.]	<0,02		0,31 $\pm$ 0,18
Densidad aparente	BDar	[kg/m ³]	290,75 $\pm$ 74,25		

BIOCOMBUSTIBLES

Parámetros	Unidades	Forestal		Agroindustrial Bagazo/RAC
		Pino	Eucalipto	
Humedad	M [g/100g b.h.]	7,11 ± 2,19	5,96 ± 1,96	6,61 ± 0,59
Cenizas	A [g/100g b.s.]	0,92 ± 0,86	1,00 ± 0,20	
Sólidos volátiles	VM [g/100g b.s.]	82,16 ± 0,63	82,10 ± 0,58	
Carbono fijo	FC [g/100g b.s.]	17,27 ± 0,52	16,90 ± 0,42	
Poder calorífico superior	PCS [Kcal/Kg b.s.]	4742,92 ± 94,29	4498,10 ± 79,05	
Durabilidad	DU [g/100g b.h.]	97,49 ± 1,01	96,8 ± 1,59	
Finos	F [g/100g b.h.]	0,92 ± 1,18	1,18 ± 0,96	
Poder calorífico inferior	PCI [kcal/kg b.h.]	4086,74 ± 114,18	4082,50 ± 102,02	
Cloro	Cl [g/100g b.s.]	<0,01	<0,01	
Azufre	S [g/100g b.s.]	<0,02	<0,02	
Densidad aparente	BDar [kg/m ³]	696,88 ± 23,02	649 ± 31,02	649 ± 27,06

El contenido de humedad de las biomásas forestales fue alto (≈ 50 [%]), lo que habla del carácter higroscópico de la madera verde. Sivabalan *et al.* (2021), destacan que la biomasa al tener alta humedad es una de las principales limitaciones para la combustión directa y reduce la eficiencia de la combustión. Tras la realización del proceso de secado y densificado donde fueron convertido en pellets, los valores de humedad se redujeron hasta ~ 7 [%], lo que los ubica en el rango recomendado por la norma ISO 17225 para garantizar un mejor desempeño en la combustión y almacenamiento de estos biocombustibles.

El contenido de cenizas se mantuvo bajo (<1 [%] en pellets), lo que representa un beneficio para la calidad del combustible, y reduce los problemas de incrustaciones y corrosión en calderas por la composición inorgánica de estas. Estos resultados son comparables con los obtenidos en pellets comerciales europeos (0,38 – 0,67 [%]) como los reportados por Kamperidou (2022) y Siyal *et al.* (2021), quienes señalan que la calidad de los pellets depende fuertemente del control de la fracción inorgánica.

En cuanto al poder calorífico, se observó un incremento tras el secado y densificado para la obtención de pellets. El poder calorífico bruto (Qb) en pellets de pino alcanzó valores de 4742,9 [kcal/kg], y en eucalipto de 4498,1 [kcal/kg], mientras que el poder calorífico neto (Qn), superaron los 4080 [kcal/kg]. Estos valores son superiores a los encontrados en la biomasa sin procesar (≈ 1900 [kcal/kg] base húmeda), confirmando que el proceso de peletizado aumenta la eficiencia energética.

La densidad aparente de los pellets obtenidos (649–697 [kg/m³]) son valores que se ubican en el rango propuesto por Kamperidou (2022) para pellets clase A1 de uso residencial (>600 [kg/m³]), garantizando un adecuado transporte y almacenamiento. Los valores de durabilidad

mecánica en los pellets presentaron valores superiores al 97 [%], cumpliendo con los requisitos internacionales (>97 [%] para pellets clase A1). Estos resultados confirman que las condiciones de pelletización aplicadas fueron adecuadas para generar un producto resistente al manejo, tal como lo evidencian estudios previos donde la durabilidad se correlaciona positivamente con la resistencia mecánica y la densidad, variables que son ajustadas a nivel mecánico en las máquinas que realizan el densificado. Se observaron diferencias al realizar un análisis comparativo entre los pellets obtenidos con pino o eucalipto. El conformado con pino presentó mayor poder calorífico y densidad aparente, mientras que el de eucalipto presentó una fracción mayor de cenizas. Estos resultados son consistentes con lo que se describe en la bibliografía, donde especies con mayor fracción de resinas y lignina tienden a presentar un mejor desempeño energético a la hora de ser quemadas para calefacción.

Dentro de las agroindustriales, el RAC de caña de azúcar representa una alternativa destacada. Los ensayos industriales realizados anteriormente por nuestro grupo de trabajo (Pulido *et al.*, 2016) demostraron que, pese a la baja densidad inicial (≈ 165 [kg/m³]), es posible densificarlo mediante pelletización hasta alcanzar valores de 728 [kg/m³], con una humedad final cercana al 9 [%], parámetros que cumplen con las normas internacionales. El poder calorífico obtenido ($\approx 2300 - 2400$ [kcal/kg]) es inferior al de maderas como pino o eucalipto, pero resulta suficiente para aplicaciones térmicas en calderas industriales adaptadas. Su durabilidad mecánica se situó en torno al 95 [%], por debajo de los estándares A1 (>97 [%]), lo que indica que aún son necesarias mejoras en el proceso de densificación. Estos resultados nos orientan al alto potencial de valorización del RAC, que pasa de ser un residuo de baja densidad y difícil manejo a un biocombustible sólido con aplicaciones regionales. Los análisis realizados sobre el bagazo de caña de azúcar nos evidencian que su pelletización ofrece ventajas energéticas similares al RAC. Liaño *et al.* (2023) reportaron valores de poder calorífico en el rango de 4000–4500 [kcal/kg] y un desempeño adecuado en densidad (>600 [kg/m³]), humedad (<12 [%]) y durabilidad ($>97,5$ [%]).

Para realizar el estudio de combustión en estufa, se tuvo en cuenta que, Argentina no cuenta con un marco normativo de carácter obligatorio para las emisiones de gases de combustión de estufas que utilizan biocombustibles sólidos, como pellets, leña o briquetas. En su lugar, el sector se rige por un marco voluntario que adopta las normas europeas UNE 14785:2006 (Aparatos de calefacción doméstica alimentados con pellet de madera) y UNE 16510-1:2019 (Equipos de calefacción residencial alimentados con combustible sólido), la primera ha sido homologada a la norma nacional IRAM 16701.

En el ensayo y determinación de los productos de gases de combustión se utilizó pellet de pino. Los resultados se resumieron en la tabla 4.

Tabla 4. Ensayo de combustión de pellets en estufas a Potencial Térmica Reducida (PTR) y Nominal (PTN).

COMPORTAMIENTO A POTENCIA TÉRMICA REDUCIDA				
Parámetros	Unidad	Estudio	Gonzales <i>et al.</i> (2023)	Norma UNE 14785:2006
Temperatura ambiente media de la sala	[°C]	28,7	20,9	
Corriente de aire transversal	[m/s]	No Detectado		≤ 20
Combustible quemado durante el ensayo	[Kg]	5,6		
Temperatura media de los gases	[°C]	184	74,7	
Emisión media de CO ₂	[%]	3,61	6,12	
Emisión media de CO	[Ppm]	547	700	≤ 750
Intervalo mínimo de recarga	[h]	25	13,75	≥ 6
Duración del período de ensayo	[h]	3	1,5	≥ 3
Carga de combustible	[Kg]	15	11	≥ 12
Porcentaje de pérdidas por calor sensible específico en los humos (q _a)	[%]	35,91	14,18	
Porcentaje de pérdidas por calor latente en los humos (q _b)	[%]	0,98		
Porcentaje de pérdidas térmicas a través de los constituyentes combustibles térmicos de los residuos que pasan a través de la parrilla (q _r)	[%]	0,04		
Rendimiento (η)	[%]	63,07	85,82	≥ 70%
Potencia Térmica Reducida (ensayo)	[Kw]	1		≤ 25
Potencia Térmica Reducida (declarada)	[Kw]	No declarada	6	≤ 25

COMPORTAMIENTO A POTENCIA TÉRMICA NOMINAL				
Parámetros	Unidad	Estudio	Gonzales <i>et al.</i> (2023)	Norma UNE 14785:2006
Temperatura ambiente media de la sala	[°C]	30,18	20,5	

COMPORTAMIENTO A POTENCIA TÉRMICA NOMINAL				
Parámetros	Unidad	Estudio	Gonzales <i>et al.</i> (2023)	Norma UNE 14785:2006
Corriente de aire transversal	[m/s]	No Detectado		≤ 20
Combustible quemado durante el ensayo	[Kg]	5,07	0,05	
Temperatura media de los gases	[°C]	204,42	74,7	
Emisión media de CO ₂	[%]	5,07	6,12	
Emisión media de CO	[ppm]	805	445	≤ 500
Intervalo mínimo de recarga	[h]	15	9,6	≥ 6
Duración del período del ensayo	[h]	3,2	1,5	≥ 3
Carga de combustible	[Kg]	15	11	≥ 12
Porcentaje de pérdidas por calor sensible específico en los humos (q_a)	[%]	26,27	10,26	
Porcentaje de pérdidas por calor latente en los humos (q_b)	[%]	1,1		
Porcentaje de pérdidas térmicas a través de los constituyentes combustibles térmicos de los residuos que pasan a través de la parrilla (q_r)	[%]	0,04		
Rendimiento (η)	[%]	72,59	89,74	≥ 75
Potencia Térmica Nominal (ensayo)	[Kw]	3		≤ 25
Potencia Térmica Nominal (declarada)	[Kw]	No declarada	12	≤ 25

La estufa ensayada por Gonzales *et al.* (2023), cumple con los requisitos de la norma UNE 14785:2006 de emisiones, recarga, capacidad de combustible y potencia térmica nominal declarada por el fabricante. Además, cumple con estándares más exigentes como la normativa diseño ecológico 2015/1185 la cual regula la eficiencia y comercialización de los equipos de calefacción domestica mayor al 75 [%].

La estufa ensayada en este trabajo cumple con los mismos requisitos salvo, las emisiones de CO, lo que estaría indicando que se generaría una combustión incompleta. También tiene una menor eficiencia en ambas potencias (PTR y PTN), lo cual resalta en un incumplimiento de la normativa vigente en el territorio europeo.

Estas diferencias podrían deberse a que la estufa ensayada por Gonzales *et al.* (2023) era electrónica, por lo cual su alimentación es de forma mecánica, y que posee un ventilador que regula el ingreso de aire para la combustión.

Conclusiones

Los resultados de este estudio confirman la viabilidad técnica de transformar los subproductos biomásicos de la actividad forestal y agroindustrial de Tucumán en biocombustibles sólidos de alto valor agregado. El proceso de densificado demuestra ser altamente eficaz para mejorar las propiedades energéticas de la biomasa cruda, logrando una reducción drástica de la humedad (de ~50 [%] a ~7 [%]) y un incremento significativo tanto en la densidad aparente como en el poder calorífico neto, que supera las 4000 [kcal/kg] en los pellets forestales.

Se ha demostrado que los pellets fabricados a partir de pino y eucalipto cumplen con los exigentes parámetros de la norma ISO 17225, alcanzando una clasificación de alta calidad (A1 y A2) gracias a su bajo contenido de cenizas (<1 [%]), alta durabilidad mecánica (>97 [%]) y elevada densidad (>640 [kg/m³]). Esto los posiciona como un combustible ideal para el mercado residencial y comercial, capaz de competir con alternativas convencionales. Asimismo, se evidencia el enorme potencial del residuo agrícola de la caña de azúcar, que, si bien presenta características que lo orientan a un uso industrial, puede ser eficientemente densificado, convirtiendo un pasivo ambiental en un recurso energético valioso. La valorización de estos recursos no solo representa una oportunidad de negocio y diversificación económica para la región, sino que también impulsa un modelo de economía circular, promoviendo la sostenibilidad y la seguridad energética local.

En cuanto a lo ensayado en las estufas se observó que a mayor potencia (PTN) existe una correlación con la eficiencia (mayor potencia, mayor eficiencia), como también en las emisiones de monóxido de carbono, donde se observó que a menor emisión media en ppm mayor es la eficiencia de la combustión.

La eficiencia de la estufa aumenta considerablemente al tener un mayor control sobre la alimentación del pellet y el ingreso de aire para la combustión. Esta mejora en el control permite que el equipo cumpla con las exigencias de eficiencia establecidas en normativas internacionales.

Bibliografía

- Andreassi, L.; Douat, G.; Salvare, F.; Capitanich, A. (2022). Caracterización y uso de biocombustibles elaborados con fines domésticos a partir de residuos forestales de *Pinus ponderosa* en Bariloche, Argentina. *Ciencia & Investigación Forestal* Vol. 28 N° 3;33-50.
- Andreassi, L.; Douat, G.; Salvare, F.; Capitanich, A. (2022). Caracterización y uso de biocombustibles elaborados con fines domésticos a partir de residuos forestales de

- Pinus ponderosa* en Bariloche, Argentina. *Ciencia & Investigación Forestal* Vol. 28 N° 3;33-50.
- Bono, J.; Annunziata, C.; Picchio, P.D.; Bongiorno, F.; Calisalla, J. (2024). Anuario de Estadística Forestal. Productos primarios, carbón y durmientes. Productos manufacturados. Comercio exterior. Incendios Forestales (Año 2023). Subsecretaría de Ambiente. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2025/07/anuario-estadistica-forestal_edicion_2024.pdf. Última consulta: 28/08/2025.
- Dirección Nacional de Desarrollo Foresto Industrial (2022). Situación actual de la Foresto Industria. Disponible en <https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/desarrolloforesto-industrial/foresto-industria>.
- FAO. (2020). Actualización del balance de biomasa con fines energéticos en la Argentina. Colección Documentos Técnicos N°19. Buenos Aires. ISBN 978-92-5-132488-2.
- Gonzalez, J.F.; Álvarez Murillo, A.; Díaz García, D.; Nogales-Delgado, S. (2023). The Determination of Combustion for different pellets Based on Ostwald Diagrams in a Domestic Stove under Experimental Conditions. *Appl. Sci.* 13(21), 12007; <https://doi.org/10.3390/app132112007>.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM). (2014). *Biocombustibles sólidos – Especificaciones y clases de combustibles – Parte 1: Requisitos generales (ISO 17225-1:2014, MOD)*. IRAM.
- International Organization for Standardization. Norma IRAM-ISO 17225-2. Biocombustibles sólidos. Especificaciones y clases de combustibles. Parte 2 - Clases de “pellets” de madera.
- Kamperidou, V. (2022). Quality analysis of commercially available wood pellets and correlations between pellets characteristics. *Energies*, 15(2865). <https://doi.org/10.3390/en15082865>
- Liaño, N.; Guerra, L.E.; Pérez, M.; González, E. (2023). Pellets de bagazo de caña, una oportunidad energética. *Centro Azúcar*, 50(2), e1022.
- Ministerio de Agroindustria de la Nación. (2016). Censo nacional de aserraderos: Informe del relevamiento censal en la provincia de Tucumán – Región NOA. Presidencia de la Nación.
- Mora Alfonsín, L. (2023). La foresto-industria en Argentina Oportunidades, desafíos y líneas de acción para una estrategia productiva sectorial. Ministerio de Economía Argentina. Disponible en:

- https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/38_-_foresto-industria_1.pdf. Última consulta: 28/08/2025.
- Pulido, G.M.; Risso, M.G.; Rearte, M.; Abdelhamid, S. (2016). Peletizado de residuo agrícola de cosecha de caña de azúcar en Argentina. INTI Tucumán.
- Raffaeli, N. (2022). Dendroenergía: biocombustibles sólidos derivados de la madera. En: Industrialización de la madera. Transformación mecánica y química: tecnologías y puesta en valor sustentable. (Eds.) Keil, G.D.; Spavento, E.M.; Raffaeli, N. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/144103/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Última consulta: 28/05/2025.
- Saletnik, B.; Saletnik, A.; Zagula, G.; Bajcar, M.; Puchalski, C. (2022). The use of wood pellets in the production of high quality biocarbon materials. *Materials*, 15(4404). <https://doi.org/10.3390/ma15134404>.
- Secretaría de Turismo, Ambiente y Deportes – Subsecretaría de Ambiente. (2024). Anuario de estadística forestal: Productos primarios, carbón y durmientes. Productos manufacturados. Comercio exterior. Incendios forestales (Año 2023). Vicejefatura de Gabinete del Interior.
- Sivabalan, K.; Hassan, S.; Hamdan, Y.; Pasupuleti, J. (2021). Thermal and physicochemical characterization of biomass for energy applications. *Journal of Physics: Conference Series*, 1831, 012033. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1831/1/012033>
- Siyal, A.A.; Liu, Y.; Mao, X.; Ali, B.; et al. (2021). Characterization and quality analysis of wood pellets: Effect of pelletization and torrefaction process variables on quality of pellets. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11, 2201–2217. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01235-6>.
- Norma UNE 14785:2006 - Aparatos de calefacción doméstica alimentados con pellets de madera. Requisitos y métodos de ensayo.

35.- Ciencias de la Vida, Medio ambiente y contaminación ambiental

Análisis temporal parcial de la diversidad de especies de mosquitos en áreas urbanas, rurales y del Bosque Atlántico de Paraguay entre 2013 a 2024

Autor: Cáceres; Darian dariancaceres1999@gmail.com

Co-autores: Bernal, Cynthia; Diaz, Chyntia; Echeverría, Sofía; Ferreira, Luis; Mendoza, Laura; Rojas, Alejandra; Valenzuela, Adriana

Orientadora: Cardozo, Fátima; acardozo@iics.una.py

Universidad Nacional de Asunción/ Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud

Resumen

Los mosquitos (Diptera: Culicidae) representan un importante grupo de insectos de interés sanitario por su rol como vectores de arbovirus. Su distribución y dinámica poblacional responden a factores ambientales, climáticos y antrópicos, lo que exige un abordaje ecológico integral. Este estudio analizó la diversidad ecológica de mosquitos en Paraguay entre 2013 y 2024, empleando los índices alfa, beta y gamma. Se colectaron 4.595 ejemplares en áreas urbanas, rurales y del bosque Atlántico, identificando 27 especies. Las zonas urbanas presentaron la mayor abundancia (72,1%), con predominancia de *Culex quinquefasciatus*, *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* y *Aedes aegypti*. En áreas rurales, se destacó el complejo *Culex complejo coronator*, mientras que en el bosque Atlántico se observó mayor equitatividad. Los índices de diversidad mostraron patrones espaciales y temporales variables: alfa fue más alto en el bosque Atlántico (1,97), beta evidenció alto recambio de especies ($\geq 0,95$) y gamma reflejó mayor riqueza regional en áreas del bosque Atlántico. Las fluctuaciones observadas se asociaron a factores ecológicos, climáticos y logísticos. Este trabajo constituye el primer análisis sistemático de diversidad de mosquitos en el país, con implicancias clave para la vigilancia entomológica y el control vectorial adaptado al contexto ecológico.

Palabras clave: mosquitos, diversidad, vigilancia

Introducción

Los mosquitos (Diptera: Culicidae)

constituyen uno de los grupos de insectos de mayor relevancia en salud pública por su rol como vectores de arbovirus, incluidos los virus del dengue, chikungunya, Zika, fiebre amarilla y encefalitis equinas (Cheng *et al.* 2016; Yu *et al.* 2019). La transmisión de estos virus está estrechamente relacionada con la ecología, distribución y dinámica poblacional de las especies de mosquitos, las cuales responden a una combinación de factores ambientales, climáticos y derivados de la intervención humana (Abbasi, 2025; Sant'Anna *et al.*, 2025).

Variables como la temperatura, la humedad relativa y la disponibilidad de sitios de reproducción son determinantes para la supervivencia y reproducción de estos insectos, al igual que factores bióticos como la presencia de hospedadores y la competencia entre especies (Bellone y Failloux, 2020; Costanzo *et al.*, 2015; Young, 2018). Por otro lado, procesos como la urbanización, el cambio en el uso del suelo y el cambio climático han transformado significativamente los entornos naturales y modificados por el ser humano, alterando los patrones de distribución de vectores y favoreciendo su expansión hacia nuevas áreas (Renard *et al.*, 2023).

En América del Sur, la diversidad de paisajes que abarca desde centros urbanos densamente poblados hasta zonas rurales y ecosistemas forestales

genera una variabilidad ecológica que sustenta una alta diversidad de especies de mosquitos vectores (Brivido *et al.*, 2023; Câmara *et al.*, 2020). En Paraguay la heterogeneidad ambiental incluye áreas urbanas, rurales y remanentes de bosques húmedos subtropicales, lo que influye directamente en la composición y estructura de las comunidades de vectores en distintas regiones del país (Danilo A. Salas-Dueñas; Juan Francisco Facetti. Fundación Moisés Bertoni, 2007).

Las zonas urbanas paraguayas se caracterizan por una alta densidad de asfalto, escasa cobertura vegetal y presencia frecuente de recipientes artificiales con agua estancada, estas condiciones favorecen la formación de criaderos acuáticos (Ministerio de Urbanismo, 2021). En contraste, las áreas rurales presentan características más diversas, con uso agropecuario del suelo, cuerpos de agua temporales con materia orgánica y vegetación secundaria, lo que genera una mayor variedad de ambientes (Gregorio Raidán Martínez, 2007). El bosque Atlántico constituye un ecosistema de elevada complejidad, caracterizado por una elevada humedad, precipitaciones abundantes y una vegetación densa. Estas condiciones ambientales proveen un entorno propicio para el desarrollo de especies asociadas a ambientes selváticos (World Wildlife Fund, 2003).

La evaluación de la biodiversidad de mosquitos en diferentes ambientes puede llevarse a cabo mediante la aplicación de los índices alfa, beta y gamma. Estos índices permiten caracterizar la composición y variabilidad de las comunidades en distintas escalas espaciales (Sepkoski, 1988). La diversidad alfa representa la riqueza de taxones en una sola localidad o comunidad particular;

la diversidad beta, la diferenciación taxonómica entre sitios o comunidades; y la diversidad gamma, la diferenciación entre regiones (**Tabla 1**). Estos índices constituyen conceptos fundamentales en ecología y biogeografía, especialmente en estudios sobre la distribución, interacción y evolución de las especies (Sepkoski, 1988).

Tabla 1.1 Descripción de Índices de diversidad alfa, beta y gamma.

Tipo de Diversidad	Definición	Enfoque
Diversidad Alfa (α)	Riqueza de especies dentro de un hábitat o comunidad específica.	Evalúa la biodiversidad local en una unidad de muestreo.
Diversidad Beta (β)	Variación en la composición de especies entre hábitats o comunidades.	Mide la diferencia en biodiversidad entre sitios.
Diversidad Gamma (γ)	Biodiversidad total en una región que abarca múltiples comunidades o hábitats.	Refleja la diversidad a escala de paisaje o ecosistema.

En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo llevar a cabo un análisis temporal parcial de la diversidad de especies de mosquitos en áreas de Paraguay entre 2013 a 2024, considerando su distribución geográfica y los distintos tipos de áreas ecológicas: urbana, rural y de bosque Atlántico.

Este análisis busca contribuir al entendimiento de la dinámica ecológica de estos vectores en el país y generar evidencia útil para el fortalecimiento de los programas de vigilancia, prevención y control de enfermedades transmitidas por

mosquitos.

Objetivos

General:

Analizar la diversidad de especies de mosquitos vectores de arbovirus en áreas urbanas, rurales y del Bosque Atlántico de Paraguay entre 2013 y 2024, considerando su variación temporal y espacial.

Específicos:

- Describir temporal y espacialmente las especies de mosquitos

colectadas.

- Calcular los índices de diversidad alfa, beta y gamma de mosquitos colectados en áreas urbanas, rurales y del Bosque Atlántico de Paraguay entre 2013 y 2024.
- Comparar la diversidad de especies de mosquitos a través de las áreas ecológicas urbana, rural y del bosque Atlántico, considerando las características ecológicas de cada zona.
- Evaluar posibles fluctuaciones temporales en la diversidad de mosquitos en función de factores ecológicos o climáticos disponibles para las áreas de muestreo.

Materiales y Métodos

Se realizaron muestreos entomológicos por conveniencia en áreas urbanas, rurales y en zonas de bosque Atlántico. Estas colectas fueron realizadas en el marco de los proyectos con código P34/2012, P16/2018 y P13/2024 aprobados por los Comités Científico y de Ética en Investigación del IICS-UNA. Las mismas fueron realizadas con el acompañamiento de profesionales del Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo (SENEPA).

Se capturaron vectores adultos usando trampas de luz tipo CDC suplementado con hielo seco y/o BG Sentinel con atrayente comercial. Estas

trampas se colocaron en sitios georreferenciados y propicios para la presencia de vectores. La colocación de las mismas fue autorizada de manera voluntaria por los propietarios de las viviendas seleccionadas.

Las trampas se mantuvieron activas entre aproximadamente las 17:00 h a 09:00 h del día siguiente.

Las colectas de mosquitos fueron realizadas conforme a la distribución geográfica observada en la **Figura 1**, que representa las localidades incluidas en el estudio. Las áreas ecológicas fueron clasificadas de acuerdo con los criterios establecidos por el Censo Nacional de Población y Viviendas 2012, llevado a cabo por la Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos de Paraguay.

Las colectas se efectuaron considerando factores ambientales que permitieran una recolección eficiente.

Los mosquitos adultos recolectados fueron sacrificados por congelamiento y fueron transportados en nitrógeno líquido o hielo seco al laboratorio del Departamento de Salud Pública del IICS-UNA para su clasificación taxonómica utilizando la clave dicotómica de Darsie por un profesional entomólogo del SENEPA (Darsie, 1985).

Toda la información recopilada, incluyendo los datos entomológicos, diversidad, abundancia de vectores se tabularon en hojas de cálculo de *Microsoft Excel* 2019.

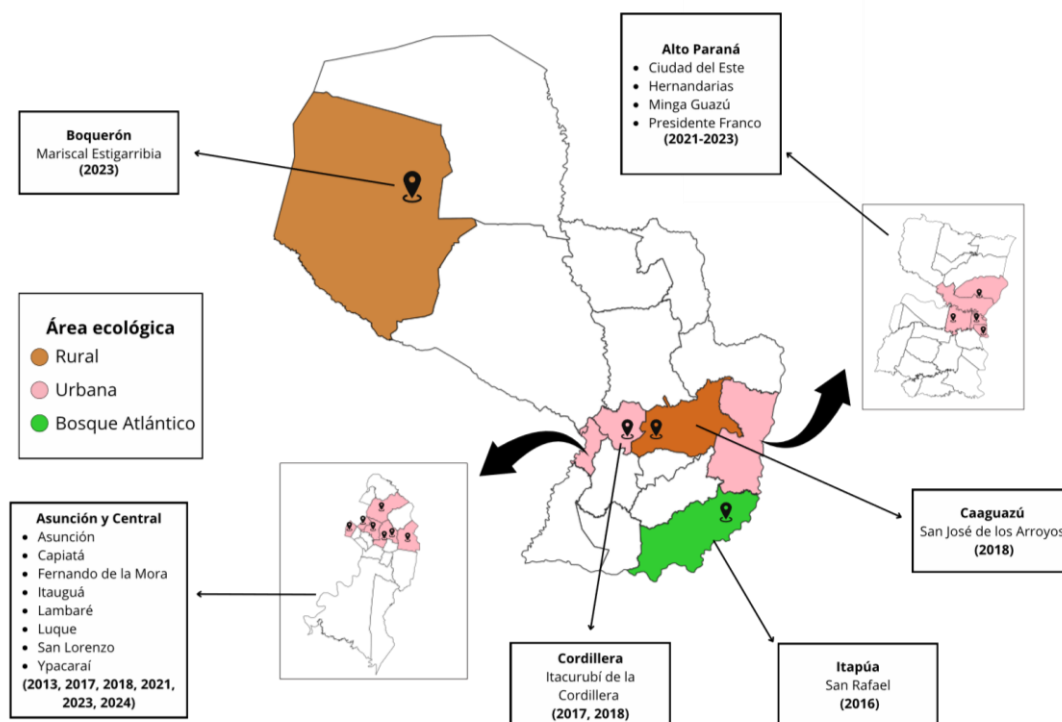


Figura 1. Localización geográfica de los sitios de colecta de mosquitos en Paraguay (2013–2024). Agrupadas en tres áreas ecológicas: urbana (rosado), rural (marrón) y bosque Atlántico (verde). Se detallan las localidades analizadas, así como los años en los que se realizaron colectas en cada sitio.

Los índices de diversidad alfa, beta y gamma entre los sitios de muestreo y la representación gráfica se realizaron utilizando el *software* R-Studio v. 2024.09.0+3755 empleando los paquetes ggplot2, vegan y reshape2.

Posteriormente, se utilizaron los programas R-Studio v. 2024.09.0+3755 e *Inkscape* v. 1.4, así como también el *software* Canva v 1.101.0, *QGIS Desktop* v 3.42.3 y la Plataforma en línea *Mapchart* 2025, para generar visualizaciones

gráficas que permitan comparar la abundancia de vectores capturados.

Resultados y Discusión

Se colectaron un total de 4.595 ejemplares de mosquitos en las localidades de Alto Paraná, Asunción, Central, Boquerón, Caaguazú, Cordillera e Itapúa, las cuales fueron agrupadas en tres áreas ecológicas: urbana, rural y del bosque Atlántico.

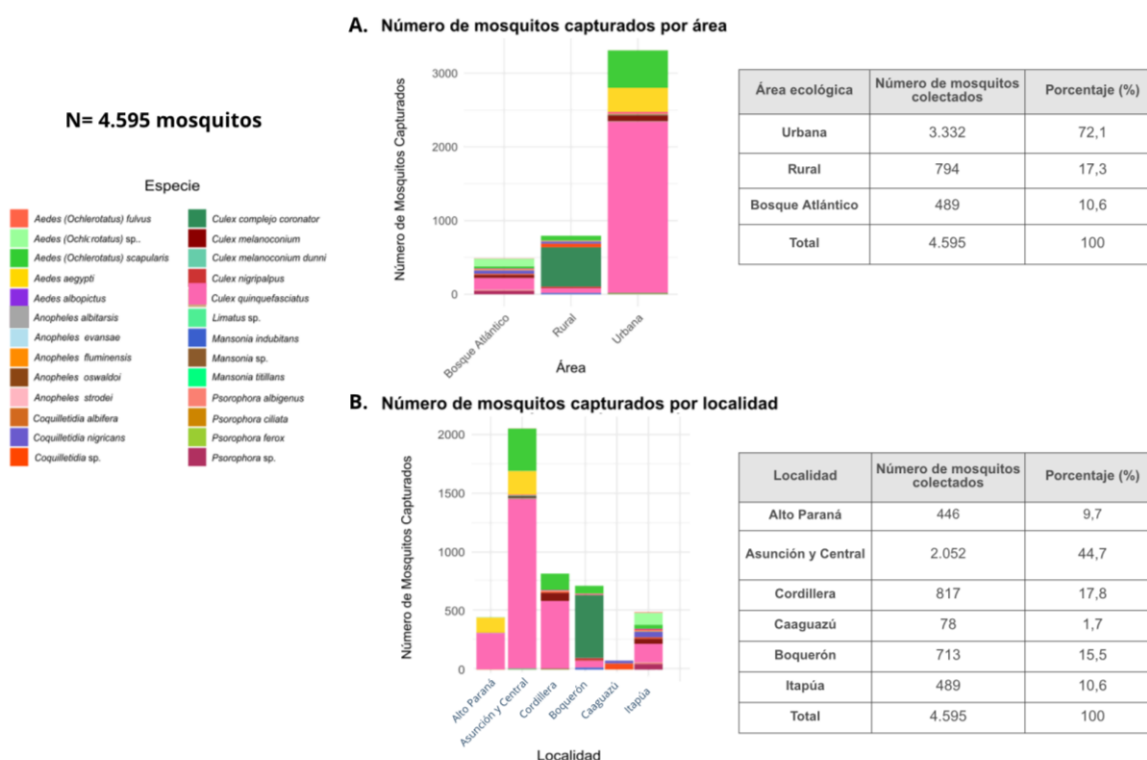


Figura 2. Número de especies de mosquitos colectados durante todos los años de estudio **(A)** En las áreas ecológicas rural, urbana y del bosque Atlántico **(B)** Por localidad en Alto Paraná, Asunción y Central, Boquerón, Caaguazú, Cordillera e Itapúa. Elaboración propia con R-Studio e Inkscape.

En la **Figura 2A** se presenta la distribución total de mosquitos recolectados según especie y área ecológica. La mayor proporción de ejemplares se registró en el área urbana, seguida por el área rural y, finalmente, el bosque Atlántico. Esta tendencia se repite en la distribución por departamento en la **Figura 2B**, donde la mayor abundancia se encontró en Asunción y Central seguido de Cordillera, Boquerón, Itapúa, Alto Paraná y por último Caaguazú. En total, fueron recolectadas e identificadas 27 especies de mosquitos.

La gran variedad de especies colectadas observadas en distintos periodos pueden deberse a múltiples variables bioclimáticas como la humedad, la temperatura, el ritmo circadiano y las precipitaciones, ya que influyen en la biología de los vectores y la elevada proporción de ejemplares recolectados en zonas urbanas es consistente con estudios previos, que señalan que la urbanización, la acumulación de residuos y la disponibilidad de criaderos artificiales favorecen la proliferación de especies como *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti*, y por ende favorecen la

propagación de los arbovirus (Bellone y Failloux, 2020; Costanzo *et al.*, 2015; Kolimenakis *et al.*, 2021; Young, 2018).

En efecto, *Culex quinquefasciatus* fue la especie más abundante ($n=2.541$), capturada en todas las áreas, principalmente en ambientes urbanos de Asunción y Central ($1.437/2.541$), Cordillera ($576/2.541$) y Alto Paraná ($308/2.541$), su elevada frecuencia concuerda con lo reportado por (Cardozo *et al.*, 2021; Gravina *et al.*, 2019) y su predominancia se explica por su tolerancia a ambientes con alta densidad poblacional y aguas residuales (Farajollahi *et al.*, 2011).

Por su parte, *Aedes (Ochlerotatus) scapularis* ($n=610$) mostró una distribución más homogénea entre áreas y departamentos, lo que sugiere una mayor adaptabilidad ecológica, esto podría representar un riesgo en contextos de cambio climático y expansión urbana, al facilitar su persistencia en hábitats alterados (Wilke *et al.*, 2017). En contraste, *Aedes aegypti* fue menos abundante ($n=334$) y se restringió principalmente a áreas urbanas. La detección constante de esta especie en áreas urbanas, a pesar de las fluctuaciones en la abundancia de otras especies, representa un hallazgo epidemiológicamente relevante. Esta especie, catalogada como principal vector de arbovirosis como el Dengue, Zika y Chikungunya, constituye un problema de

salud pública persistente en Paraguay (Yu *et al.*, 2019). La capacidad de adaptación de estos mosquitos a entornos urbanos y periurbanos, donde se reproducen en aguas estancadas y con materia orgánica, lo que favorece su proliferación en áreas densamente pobladas y con deficiencias en saneamiento, explica su persistencia en las zonas estudiadas (Renard *et al.*, 2023).

En cuanto al área rural, representada por los departamentos de Boquerón y Caaguazú, se destaca la alta presencia del *Culex complejo coronator*, particularmente en Boquerón. Esta especie ha sido asociada a regiones semiáridas, como el Chaco paraguayo, y a entornos rurales con cuerpos de agua expuestos (Connelly, Alto, y O'Meara, 2016). Su presencia podría indicar un posible rol como vector puente entre ambientes silvestres y urbanos, como se ha reportado en Centroamérica (Romero-Vega *et al.*, 2023). En Caaguazú, la presencia destacada de *Coquilletidia* se relaciona probablemente con el contexto del sitio de muestreo, una granja avícola.

Por otro lado, el bosque Atlántico, representado por Itapúa, tuvo la menor cantidad de ejemplares recolectados, a pesar de sus condiciones favorables para el desarrollo de mosquitos (alta humedad, vegetación densa y precipitaciones elevadas). Esto podría deberse a dificultades logísticas asociadas al acceso

y al muestreo en entornos boscosos, como ha sido reportado en ecosistemas

tropicales similares (Hendy *et al.*, 2024; Loaiza *et al.*, 2017).

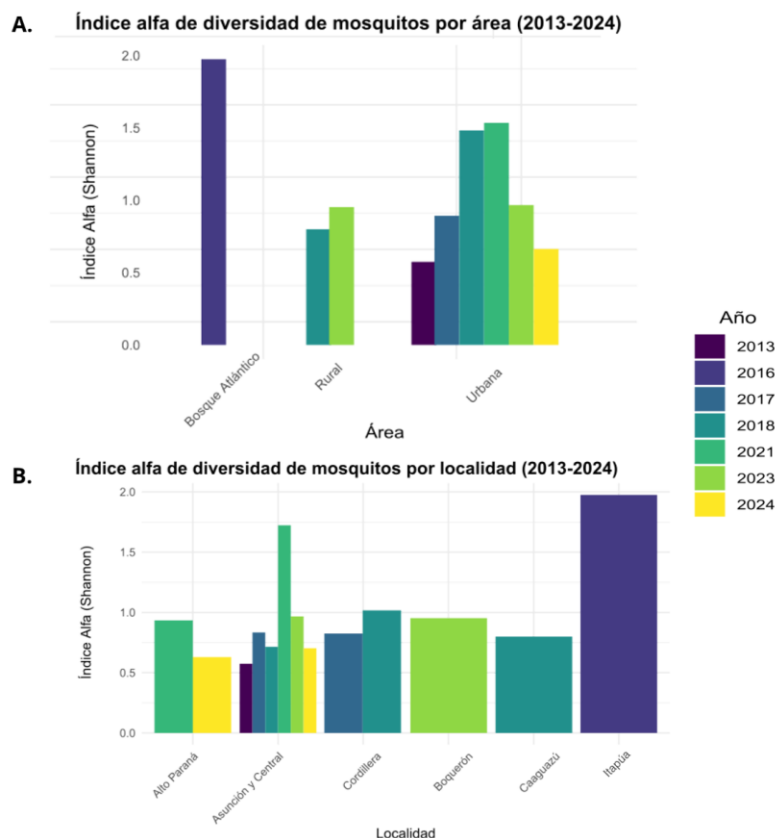


Figura 3. Índice alfa de diversidad de especies de mosquitos colectados durante todos los años de estudio **(A)** En las áreas ecológicas rural, urbana y del bosque Atlántico **(B)** Por localidad en Alto Paraná, Asunción y Central, Boquerón, Caaguazú, Cordillera e Itapúa. Elaboración propia con R-Studio e *Inkscape*.

En relación con la diversidad, el índice alfa fue más alto en el bosque Atlántico, con un valor de 1,97 en 2016. En cambio, las áreas urbanas presentaron una diversidad intermedia, alcanzando 1,53 en 2023, pero disminuyendo a 0,66 en 2024. Las zonas rurales mostraron valores generalmente bajos, con un mínimo de 0,00 en 2021 y un máximo de 0,95 en 2023 (**Figura 3A**). Estas diferencias reflejan el

impacto de las condiciones ecológicas: la complejidad estructural y la heterogeneidad del bosque Atlántico (alta humedad, cobertura vegetal, cuerpos de agua naturales) favorecen la coexistencia de múltiples especies (World Wildlife Fund, 2003), mientras que las áreas urbanas, más homogéneas y artificiales, favorecen a unas pocas especies dominantes,

reduciendo la equitatividad y, por ende, la diversidad.

Al observar por departamentos (**Figura 3B**), se observó que Asunción y Central presentaron un índice alfa de 1,72 en 2021, superior al de Alto Paraná de 0,96. En 2024, ambos descendieron a 0,70

y 0,62, respectivamente. Cordillera mostró un valor de 1,01 en 2018, comparable al de otras zonas urbanas. En áreas rurales, Boquerón registró un índice alfa de 0,95 y Caaguazú de 0,80, lo que refleja cierta estabilidad, aunque con menor diversidad específica.

Tabla 2. Valores representativos de diversidad beta, e interpretación de diversidad gamma por área ecológica (2013–2024)

Área	Bosque Atlántico	Urbana	Rural
Año(s) clave	2016	2018 - 2021	2018 – 2023
Diversidad Beta (β)	-	0,95 - 0,99	0,95
Diversidad Gamma (γ)	Alta	Intermedia	Baja

Notas: La diversidad gamma se interpreta en relación con la diversidad alfa de cada área y el recambio (beta) observado entre localidades. Se consideró como “alta” aquella diversidad gamma asociada a ambientes con alta riqueza de especies y mayor equitatividad (alfa >1,5). La categoría “intermedia” se asignó a ambientes con riqueza moderada (alfa entre 0,8 y 1,5) y beta variable. La categoría “baja” correspondió a ambientes con baja riqueza y dominancia de pocas especies (alfa <0,8), junto a baja o nula diferencia entre localidades. Para más información consultar **Anexos 1 y 2**.

El índice beta, que mide la diferencia entre localidades dentro de una misma área ecológica, mostró valores altos ($\geq 0,95$) en los años 2018, 2021 y 2023 (**Tabla 2**). Esto indica un alto recambio de especies entre localidades del mismo tipo de área, lo cual podría deberse a variaciones en microambientes, fuentes de agua, vegetación o prácticas humanas. En este sentido, el valor elevado de beta refuerza la idea de que la diversidad no depende solo del número de especies, sino también de su distribución espacial.

Por último, la diversidad gamma, entendida como la diversidad total acumulada por área ecológica, fue más alta en el bosque Atlántico, intermedia en áreas urbanas y relativamente baja en zonas rurales (**Tabla 2**). Esta estimación se basa en la combinación de alta equitatividad (alfa) y fuerte recambio entre sitios (beta), lo cual refleja una alta riqueza a nivel regional, incluso sin un valor único calculado. La presencia elevada de especies más distribuidas como *Culex quinquefasciatus* junto con otras más específicas como *Aedes (Ochlerotatus)*

scapularis, sustenta esta diversidad. gamma elevada. Así, es importante considerar el esfuerzo de colecta como un factor que podría estar sesgando los

En conjunto, los resultados demuestran que la diversidad y abundancia de mosquitos en Paraguay varía significativamente entre áreas ecológicas y departamentos. El bosque Atlántico destaca como el ecosistema más complejo y diverso, mientras que las zonas urbanas presentan mayor abundancia, pero menor equitatividad.

Estas diferencias pueden explicarse no sólo por factores como la cobertura de servicios públicos (acceso a agua potable y saneamiento) sino también por aspectos logísticos relacionados con las colectas. Factores como la cantidad de trampas por localidad, las condiciones climáticas y de temperatura durante la colocación, la vegetación del sitio y la presencia de criaderos potenciales influyen considerablemente en la captura.

Es importante considerar además aspectos logísticos de las capturas. La elección del sitio para la instalación de las trampas debe ser cuidadosa, garantizando su seguridad ante robos o daños por animales, lo que puede afectar la eficacia de la colecta. También es crucial proteger adecuadamente las baterías, ya que pueden ser manipuladas o desactivadas si

resultados. Para evitar el sesgo de muestreo es fundamental la realización de esfuerzos coordinados para lograr un muestreo sostenido en tiempo y espacio. no están resguardadas correctamente. Otro desafío es el uso de atrayentes, cuyo olor desagradable limita su colocación en domicilios, que son las zonas clave para la colecta de *Aedes aegypti*. Esta restricción podría subestimar la población en áreas esenciales. Además, la coordinación interinstitucional es un reto, sumado al escaso número de profesionales entomólogos en el país lo cual genera el retraso en la realización de colectas y en la identificación de los ejemplares colectados.

Estos resultados aportan información clave para fortalecer la vigilancia entomológica y el control vectorial en Paraguay, al vincular patrones ecológicos con riesgos epidemiológicos. Por ejemplo, un aumento sostenido en la abundancia o diversidad de especies como *Aedes aegypti* en zonas urbanas, reflejado en índices alfa altos o menor equitatividad, podría anticipar brotes de arbovirus, requiriendo intervenciones específicas. Asimismo, un aumento en el índice beta entre localidades podría indicar cambios en la distribución de especies por alteraciones ambientales o climáticas, justificando la expansión del muestreo. Este análisis respalda la necesidad de adaptar estrategias de control a las condiciones ecológicas locales, en lugar de aplicar

medidas uniformes en todo el país. Como perspectiva se prevé profundizar en el análisis de variables bioclimáticas para evaluar su posible influencia en la estructura de las comunidades observadas. Este enfoque permitiría identificar factores ecológicos clave asociados a la variabilidad espacial detectada.

Conclusiones

Este estudio permitió analizar la diversidad de mosquitos vectores de arbovirus en Paraguay entre 2013 y 2024, evidenciando variaciones espaciales y temporales marcadas. Se colectaron 4.595 ejemplares en áreas urbanas, rurales y del bosque Atlántico, con mayor abundancia en zonas urbanas, especialmente en Asunción y Central. *Culex quinquefasciatus* fue la especie predominante, seguida por *Aedes (Ochlerotatus) scapularis*, que mostró distribución más homogénea, además se registró gran presencia de las especies *Culex complejo coronator* en zonas rurales como el departamento de Boquerón y *Aedes aegypti* en zonas urbanas.

Los índices de diversidad indicaron mayor equitatividad en el bosque Atlántico (alfa: 1,97) y una diversidad regional gamma elevada. Las zonas urbanas presentaron diversidad intermedia, y las rurales, menor diversidad, pero con variación específica entre departamentos.

Se identificaron fluctuaciones temporales, particularmente en áreas urbanas, donde el índice alfa varió notablemente entre años. Estos cambios pueden relacionarse con factores ecológicos, climáticos o de esfuerzo de muestreo y proporcionan información esencial para fortalecer la vigilancia entomológica, al vincular patrones ecológicos con riesgos epidemiológicos. La detección de un aumento sostenido en la abundancia o diversidad de especies como *Aedes aegypti* en zonas urbanas, reflejado en índices alfa elevados o menor equitatividad, en conjunto con la vigilancia virológica, podría emplearse como una herramienta fundamental para anticipar brotes de arbovirus y señalar la necesidad de intervenciones específicas. Asimismo, incrementos en el índice beta entre localidades pueden indicar cambios en la distribución de especies asociados a alteraciones ambientales o climáticas, lo que justificaría ampliar o ajustar la cobertura de muestreo.

Este constituye el primer trabajo que incorpora formalmente el análisis de diversidad ecológica de especies de mosquitos en el país, utilizando índices alfa, beta y gamma en una escala temporal extensa y con cobertura geográfica representativa. Hasta el momento, los reportes previos se han centrado principalmente en aspectos taxonómicos, detección viral o distribución puntual de

especies, sin evaluar su diversidad desde una perspectiva cuantitativa y comparativa. Por lo tanto, este estudio representa un aporte clave para el conocimiento entomológico del país y para la planificación de estrategias diferenciales de vigilancia y control vectorial. Como perspectiva futura, se considera prioritario integrar variables bioclimáticas al análisis de diversidad, a fin de identificar posibles determinantes ambientales de los patrones observados. Este enfoque contribuirá a una comprensión más integral de las dinámicas ecológicas locales y permitirá orientar con mayor precisión futuras estrategias de vigilancia o conservación.

Referencias Bibliográficas

- Abbasi, Ebrahim. 2025. «Global expansion of *Aedes* mosquitoes and their role in the transboundary spread of emerging arboviral diseases: A comprehensive review». *IJID One Health* 6:100058. doi:10.1016/j.ijidoh.2025.100058.
- Bellone, Rachel, y Anna-Bella Failloux. 2020. «The Role of Temperature in Shaping Mosquito-Borne Viruses Transmission». *Frontiers in Microbiology* 11. doi:10.3389/fmicb.2020.584846.
- Brivido, Melina V., Evangelina Muttis, Ilaria Agostini, María V. Micieli, y Laura B. Tauro. 2023. «Diversidad de mosquitos (Diptera, Culicidae) en áreas de importancia epidemiológica en el Atlántico del Alto Paraná de Misiones, Argentina». *Ecología Austral* 33(2):314-24. doi:10.25260/EA.23.33.2.0.2153.
- Câmara, Daniel Cardoso Portela, Célio da Silva Pinel, Gláucio Pereira Rocha, Claudia Torres Codeço, y Nildimar Alves Honório. 2020. «Diversity of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors in a heterogeneous landscape endemic for arboviruses». *Acta Tropica* 212:105715. doi:10.1016/j.actatropica.2020.105715.
- Cardozo, Fátima, Alejandra Rojas, Cynthia Bernal, Luis Ferreira, Adrián Díaz, Malvina Páez, Yvalena Guillén, Marta Contigiani, y Laura Mendoza. 2021. «Implementación de un sistema de detección de flavivirus en mosquitos». *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud* 19(2):32-40. doi:10.18004/mem.iics/1812-9528/2021.019.02.32.
- Cheng, Gong, Yang Liu, Penghua Wang, y Xiaoping Xiao. 2016. «Mosquito Defense Strategies against Viral Infection». *Trends in Parasitology* 32(3):177-86. doi:10.1016/j.pt.2015.09.009.

- Connelly, C. Roxanne, Barry W. Alto, y George F. O'Meara. 2016. «The spread of *Culex coronator* (Diptera: Culicidae) throughout Florida». *Journal of Vector Ecology* 41(1):195-99.
doi:10.1111/jvec.12213.
- Costanzo, K. S., S. Schelble, K. Jerz, y M. Keenan. 2015. «The effect of photoperiod on life history and blood-feeding activity in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)». *Journal of Vector Ecology* 40(1):164-71.
doi:10.1111/jvec.12146.
- Danilo A. Salas-Dueñas; Juan Francisco Facetti. Fundación Moisés Bertoni, USAID, GEF. 2007. «Ecosistema y salud. El impacto de las alteraciones ambientales en las enfermedades transmitidas por vectores». en *Biodiversidad del Paraguay, una aproximación a sus realidades*.
- Darsie, R. F. , Jr. 1985. «Mosquitoes of Argentina. Part I. Keys for identification of adult females and fourth stage larvae in English and Spanish (Diptera: Culicidae).» *Mosquito Systematics* 17(3):153-253.
- Farajollahi, Ary, Dina M. Fonseca, Laura D. Kramer, y A. Marm Kilpatrick. 2011. «"Bird biting" mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology». *Infection, Genetics and Evolution* 11(7):1577-85.
doi:10.1016/j.meegid.2011.08.013.
- Gravina, Humberto Doriguêto, Andreia Akemi Suzukawa, Camila Zanluca, Fatima María Cardozo Segovia, Marcel Kruchelski Tschá, y Allan Martins da Silva. 2019. «Identification of insect-specific flaviviruses in areas of Brazil and Paraguay experiencing endemic arbovirus transmission and the description of a novel flavivirus infecting *Sabethes belisarioi*.» *Virology* 527:98-106.
doi:10.1016/j.virol.2018.11.008.
- Gregorio Raidán Martínez. 2007. «Medio Ambiente y agricultura en el Paraguay». *Revista Crítica* (22).
- Hendy, Adam, Nelson Ferreira Fé, Igor Pedrosa, André Girão, Taly Nayandra Figueira dos Santos, Claudia Reis Mendonça, José Tenaçol Andes Júnior, Flamarion Prado Assunção, Edson Rodrigues Costa, Vincent Sluydts, Marcelo Gordo, Vera Margarete Scarpassa, Michaela Buenemann, Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda, Maria Paula Gomes Mourão, Nikos Vasilakis, y Kathryn A. Hanley. 2024. «Forest edge landscape context affects mosquito community

- composition and risk of pathogen emergence».
- Kolimenakis, Antonios, Sabine Heinz, Michael Lowery Wilson, Volker Winkler, Laith Yakob, Antonios Michaelakis, Dimitrios Papachristos, Clive Richardson, y Olaf Horstick. 2021. «The role of urbanisation in the spread of Aedes mosquitoes and the diseases they transmit—A systematic review». *PLOS Neglected Tropical Diseases* 15(9):e0009631. doi:10.1371/journal.pntd.0009631.
- Loaiza, Jose R., Larissa C. Dutari, Jose R. Rovira, Oris I. Sanjur, Gabriel Z. Laporta, James Pecor, Desmond H. Foley, Gillian Eastwood, Laura D. Kramer, Meghan Radtke, y Montira Pongsiri. 2017. «Disturbance and mosquito diversity in the lowland tropical rainforest of central Panama». *Scientific Reports* 7(1):7248. doi:10.1038/s41598-017-07476-2.
- Ministerio de Urbanismo, Vivienda y Hábitat (MUVH). 2021. *Manual de Infraestructura Verde Urbana*.
- Renard, Aubane, Fernanda Pérez Lombardini, Mitsuri Pacheco Zapata, Thibaud Porphyre, Ana Bento, Gerardo Suzán, David Roiz, Benjamin Roche, y Audrey Arnal. 2023. «Interaction of Human Behavioral Factors Shapes the Transmission of Arboviruses by Aedes and Culex Mosquitoes». *Pathogens* 12(12):1421. doi:10.3390/pathogens12121421.
- Romero-Vega, Luis M., Marta Piche-Ovares, Claudio Soto-Garita, Daniel Felipe Barantes Murillo, Luis Guillermo Chaverri, Alejandro Alfaro-Alarcón, Eugenia Corrales-Aguilar, y Adriana Troyo. 2023. «Seasonal changes in the diversity, host preferences and infectivity of mosquitoes in two arbovirus-endemic regions of Costa Rica». *Parasites & Vectors* 16(1):34. doi:10.1186/s13071-022-05579-y.
- Sant'Anna, Maryly Weyll, Maurício Lamano Ferreira, Leonardo Ferreira da Silva, y Pedro Luiz Côrtes. 2025. «Climate Change and Arbovirus: A Review and Bibliometric Analysis». *Climate* 13(2):35. doi:10.3390/cli13020035.
- Sepkoski, J. John. 1988. «Alpha, beta, or gamma: where does all the diversity go?» *Paleobiology* 14(3):221-34. doi:10.1017/S0094837300011969.
- Wilke, André Barretto Bruno, Antônio Ralph Medeiros-Sousa, Walter Ceretti-Junior, y Mauro Toledo Marrelli. 2017. «Mosquito populations dynamics associated with climate variations». *Acta Tropica* 166:343-50.

doi:10.1016/j.actatropica.2016.10.025.

World Wildlife Fund. 2003. *Una Visión de Biodiversidad para la Ecorregión del Atlántico del Alto Paraná: Diseño de un Paisaje para la Conservación de la Biodiversidad y prioridades para las acciones de conservación*. Washington, D.C.

Young, Paul R. 2018. «Arboviruses: A Family on the Move». Pp. 1-10 en.

Yu, Xi, Yibin Zhu, Xiaoping Xiao, Penghua Wang, y Gong Cheng. 2019. «Progress towards Understanding the Mosquito-Borne Virus Life Cycle». *Trends in Parasitology* 35(12):1009-17.

doi:10.1016/j.pt.2019.09.006.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de los residentes que autorizaron voluntariamente el acceso a sus domicilios para la instalación de trampas entomológicas para la colecta de mosquitos. Reconocemos su buena predisposición y compromiso con la investigación científica orientada al control y vigilancia de vectores.

Financiamiento

Las colectas de mosquitos analizados en este estudio fueron realizadas en el marco de proyectos cofinanciados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con el apoyo del FEEI" (14-INV-152 y PINV18-732) y por el Rectorado de la UNA (FIR-2024 P13/2024).

Anexos

Anexo 1. Tabla detallada de índices de diversidad por área ecológica.

	Índice	Alfa	Beta	Gamma
Años	Área			
2013	Urbana	0,57	-	0,57
2016	Bosque Atlántico	1,97	-	1,97
2017	Urbana	0,89	-	0,89
2018	Urbana	1,48	0,95	2,28
	Rural	0,80	0,95	2,28
2021	Urbana	1,54	0,99	1,53
	Rural	0,00	0,99	1,53
2023	Urbana	0,97	0,95	1,92
	Rural	0,95	0,95	1,92
2024	Urbana	0,66	-	0,66

Anexo 2. Tabla detallada de índices de diversidad por departamento.

	Índice	Alfa	Beta	Gamma
Años	Departamento			
2013	Asunción y Central	0,57	-	-
2016	Itapúa	1,97	-	1,97
2017	Asunción y Central	0,83	0,51	1,66
	Cordillera	0,82	0,51	1,66
2018	Asunción y Central	0,71	0,91	2,53
	Caaguazú	0,80	0,91	2,53
	Cordillera	1,02	0,91	2,53
2021	Asunción y Central	1,72	0,52	2,66
	Alto Paraná	0,96	0,52	2,66
2023	Asunción y Central	0,97	0,85	1,92
	Boquerón	0,95	0,85	1,92
2024	Asunción y Central	0,70	0,32	1,33
	Alto Paraná	0,63	0,32	1,33

35 – Meio Ambiente e contaminação ambiental

Transferência trófica de microplásticos? Evidências da retenção prolongada em *Pomacea figulina*

Autor: Woppe, Natália; nataliawoppe@estudante.ufscar.br

Co – autor (es): Arruda, Eliane; P.; arruda@ufscar.br

Orientador: Waldman, Walter; R.; walter@ufscar.br

Universidade Federal de São Carlos, Campus Sorocaba.

Resumo

O descarte inadequado de plásticos propicia a formação de microplásticos (MPs), partículas de 1 µm a 5 mm, derivadas de processos físico-químicos e biológicos. Esses contaminantes podem ser ingeridos por organismos aquáticos, acumulando-se nos tecidos e ocasionando efeitos adversos, como redução alimentar, comprometimento reprodutivo e aumento da mortalidade. Gastrópodes, por sua sensibilidade ecológica e posição trófica intermediária, são considerados bioindicadores eficazes. Este estudo avaliou a retenção e a distribuição de MPs em *Pomacea figulina*, bem como sua excreção. Vinte e quatro indivíduos foram submetidos por 72 horas a três tratamentos: controle, dieta com 10% e 20% de MPs de polietileno (0,001–0,331 mm²; média: 0,1665 mm²). Após o período de exposição, fezes foram coletadas e os organismos eutanasiados após 50 dias. Os tecidos (brânquias, pulmão, glândula digestiva, sistema digestório e vísceras) foram digeridos com peróxido de hidrogênio (30%) e filtrados em membranas de 5 µm. Detectaram-se 22 fragmentos no sistema digestório, 5 na glândula digestiva, 1 no rim, 1 nas vísceras e 1 nas brânquias, indicando retenção prolongada e penetração tecidual. Contudo, nem todos os indivíduos apresentaram MPs, evidenciando variabilidade na ingestão e retenção. Os resultados demonstram o potencial de *P. figulina* como retentor prolongado de microplásticos, com penetração em diversos órgãos e reforçam a preocupação com a bioacumulação de MPs em ecossistemas aquáticos.

Palavras-chave: Gastrópodes, Microplásticos, Retenção prolongada.

Introdução

A produção de plásticos em larga escala é um problema ambiental que está relacionado ao consumo e descarte de objetos que possuem polímeros em sua composição (Gaylard, 2021). São encontradas partículas de plásticos no ar, solo, água e nas biotas terrestres e aquáticas. A maioria desses detritos estão nos ecossistemas aquáticos, podendo chegar a tamanhos invisíveis a olho nu, facilitando o processo de contaminação (Bulgatti et al., 2023).

Os microplásticos (MPs) (menores ou igual a 5 mm) e os nanoplásticos (NPs) (inferiores a 1µm) são partículas sólidas de polímeros que podem ter origem primária ou secundária. Os micros(nano)plásticos primários são partículas utilizadas na produção de produtos como cosméticos e roupas sintéticas (Gaylard, 2021), enquanto os micros(nano)plásticos secundários são partículas que foram fragmentadas por eventos físicos e químicos naturais ou através da digestão de animais, por exemplo, os macroinvertebrados (Rodrigues et al., 2023).

Os macroinvertebrados bentônicos são animais aquáticos que vivem associados a algum tipo de substrato, como por exemplo costões rochosos, raízes de plantas, fundo de ambientes como embaixo de pedras, sedimentos, lama e areia. Localizados nos substratos, muitos realizam a decomposição de

matéria orgânica, participando do fluxo de energia e integrando a cadeia alimentar. Algumas espécies bentônicas estão associadas às trocas de materiais nos sedimentos ou em colunas d'água. Esta gama de invertebrados pode ser utilizada como bioindicadores (Queiroz et al., 2018).

Organismos bioindicadores são espécies ou grupos de espécies que podem refletir os níveis de contaminação biótica ou abiótica de um ambiente, gerando informações sobre a qualidade do ambiente (Novais; Maciozek, 2021). O organismo pode apresentar parâmetros físico-químicos que estão relacionados ao efeito antrópico de um determinado ecossistema, por via de biofragmentação e bioacumulação (Barbosa et al., 2016). Em outras situações, a sobrevivência dos indivíduos pode ficar comprometida, quando ocorre a acumulação de substâncias acima do normal, levando a alterações na densidade populacional, que funciona como um marcador biológico.

Organismos bentônicos são bons bioindicadores pois geralmente apresentam sensibilidade à exposição e ingestão de poluentes, gerando informações biológicas que servem como uma ferramenta de análise para verificar a qualidade da água e a saúde do ecossistema (Barbosa et al., 2016). Esta maior sensibilidade está relacionada com sua íntima associação com o substrato, por serem fixos ou sésseis e por terem ciclos de vida curtos, e, portanto, refletindo a

contaminação local.

Os moluscos do gênero *Pomacea* são distribuídos desde a região nordeste à região Sudeste do país, habitam em ecossistemas de águas doces que apresentam cursos lentos (Mardones et al., 2021). Possui um mecanismo de respiração dupla, capaz de realizar a respiração tanto no meio aquático como no terrestre. São utilizados como bioindicadores para análises de qualidade de água, por possuírem uma tolerância à poluentes, acumulando as substâncias do meio aquático (Thiego, 2016). Torna-se uma referência da análise de ambientes que são utilizados para abastecimento e rastreamento de doenças contaminantes.

Neste estudo, foi escolhido especificamente a espécie *Pomacea figulina* por apresentar maior abundância entre as outras espécies, no ambiente onde ocorre o fornecimento de água para as cidades da região de Sorocaba (Vendramini; Arruda, 2022). A utilização deste animal pode demonstrar diversas informações sobre o ecossistema inserido, dentre essas, os polímeros que se encontram na água.

Objetivos

Avaliar se *Pomacea figulina* pode ser utilizada como um biomonitor de poluição plástica, verificando a ingestão, assimilação e eliminação de MPs, analisando a capacidade do animal em expelir as partículas para o ambiente.

Materiais e Métodos

Foram coletados 24 indivíduos adultos do gastrópode *Pomacea figulina* em um trecho do rio Pirajibu-Mirim (23°29'24.2"S; 47°23'06.3"W), localizado no bairro Brigadeiro Tobias, município de Sorocaba, estado de São Paulo. A coleta foi realizada aleatoriamente ao longo das margens do rio. Os organismos foram acondicionados em recipientes com água do próprio ambiente e transportados até o Laboratório de Macroinvertebrados Bentônicos (LEMB), da Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba (UFSCar).

No laboratório, os indivíduos foram pesados em balança digital Shimadzu modelo AUY220 e medidos com paquímetro digital Zaus modelo IP54 ($\pm 0,01$ mm), registrando-se a massa e o comprimento corporal. Em seguida, foram alocados individualmente em aquários de vidro com volume de 3 L, contendo sistema de aeração com pedra porosa e filtro de carvão ativado confeccionado com tubo de PVC preenchido com carvão, calcário e estopa.

Os parâmetros físico-químicos da água (pH, amônia e temperatura) foram monitorados diariamente, mantendo-se os valores dentro das faixas adequadas para organismos de água doce. O período de aclimação foi de 14 dias.

Os grupos experimentais foram assim definidos: Grupo Controle (sem

adição de microplásticos), Tratamento 1 (ração com 20% de microplásticos) e Tratamento 2 (ração com 10% de microplásticos).

Inicialmente, todos os indivíduos foram pesados e medidos. Após essa etapa, foi realizado um período de depuração pré-exposição, com o objetivo de eliminar eventuais particulados previamente ingeridos. Durante esse período, os animais foram alimentados com 0,5 g de uma ração elaborada em laboratório.

Na fase de exposição, os indivíduos receberam 1 g de ração correspondente ao tratamento (com ou sem microplásticos) e permaneceram expostos ao alimento por um período de 72 horas. Após a exposição, procedeu-se à limpeza dos aquários por sucção, com remoção total dos sedimentos a cada 4 dias. As fezes eliminadas foram peneiradas com malha de 0,005 mm², tratadas com 10 mL de peróxido de hidrogênio (30%). O material foi então armazenado em estufa a 50 °C por 72 horas.

A fase de depuração pós-exposição teve duração de 52 dias. Ao final deste período, os animais foram eutanasiados com solução de mentol e cloreto de magnésio (10%). Posteriormente, procedeu-se à dissecação dos indivíduos, com extração dos seguintes órgãos de interesse: brânquias, pulmões, intestino, glândula digestiva e vísceras.

Os órgãos coletados foram submetidos à digestão com peróxido de hidrogênio

(30%) e filtrados a vácuo utilizando membranas com porosidade de 5 µm. As membranas resultantes foram analisadas sob estereomicroscópio com o intuito de identificar a presença de microplásticos.

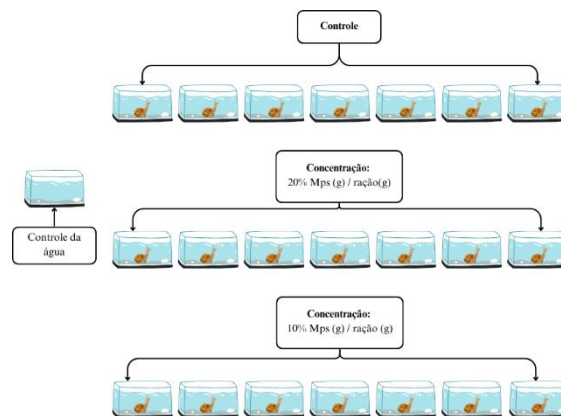


Figura 1. Ilustração da organização dos tratamentos.

Resultados e Discussão

O processo de depuração demonstrou eliminação inicial elevada aproximadamente 4.000 partículas, seguida de queda progressiva até a quase completa excreção entre 24 e 52 dias, conforme é observável na figura 2. Embora o tempo de depuração tenha sido maior que o observado em peixes, nos quais a eliminação ocorre em até 128 horas (Wang et al., 2021), o padrão de excreção gradual confirma que *Pomacea* apresenta uma retenção.

Portanto, a exposição de *Pomacea* a MPs resultou em acúmulo inicial significativo no sistema digestivo, seguido de eliminação gradual, em conformidade com a literatura que indica a tendência à excreção das partículas ingeridas. Contudo, potenciais alterações fisiológicas

associadas ao metabolismo, podem estar correlacionadas ao tempo de residência do polímero e seus componentes químicos associados a eles.

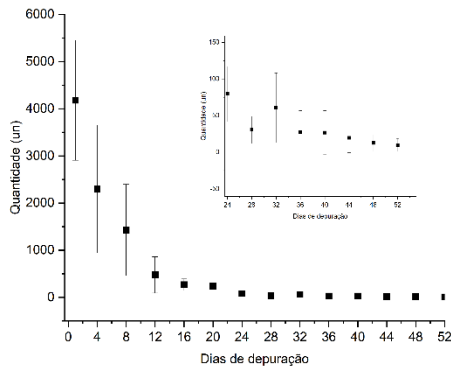


Figura 2. Gráfico da quantidade média de microplásticos excretados ao longo dos dias de depuração na experimentação.

Observa-se que na figura 3, no sistema digestivo concentrou a maior parte das partículas ingeridas, com médias de 14 unidades no tratamento 1 e 22 unidades no tratamento 2. Outros órgãos apresentaram acúmulo reduzido, sendo quase inexistente no rim. Esse padrão indica que a principal rota de interação ocorre pela ingestão, com baixa translocação para tecidos periféricos.

Achados semelhantes foram relatados em peixes marinhos, nos quais a ingestão de MPs é seguida de rápida eliminação, sem acúmulo significativo em tecidos internos (Wang et al., 2021). No entanto, os gastrópodes apresentaram retenção inicial maior, possivelmente em função da morfologia e fisiologia do sistema digestório. Em campo, valores mais baixos de acúmulo (4 a 7 partículas)

foram observados em populações naturais de gastrópodes, atribuídos a menor disponibilidade ambiental (Tamuang et al., 2023).

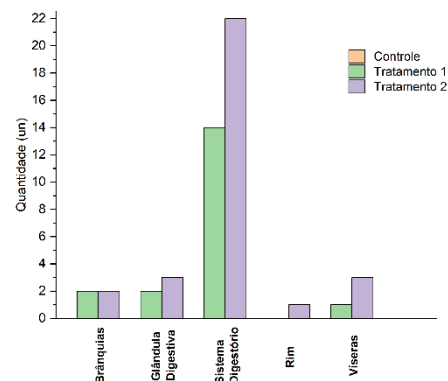


Figura 3. Quantidade de particulados encontrados nos respectivos órgãos dos indivíduos.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que *Pomacea* exposta a microplásticos por 72 horas acumula predominantemente essas partículas no sistema digestivo, com baixas concentrações em órgãos acessórios e quase ausência em tecidos como o rim.

Esse padrão reforça a ideia de que a principal via de interação ocorre pela ingestão, com baixa translocação para outros compartimentos fisiológicos.

O processo de depuração, acompanhado por 52 dias, revelou eliminação progressiva das partículas, iniciada com valores elevados nos primeiros dias e alcançando quase completa excreção após cerca de três a sete semanas. Embora o tempo de

eliminação tenha sido maior do que o relatado em outros organismos aquáticos, como peixes, o padrão de depuração gradual confirma a capacidade de *Pomacea* em reter microplásticos de forma prolongada.

A comparação com a literatura indica convergência de resultados, embora diferenças metabólicas entre espécies expliquem a variação temporal no processo de depuração. Além disso, estudos complementares sugerem que, mesmo quando os microplásticos são eliminados, a exposição pode desencadear alterações fisiológicas, como o aumento da atividade de enzimas ligadas à biomineralização, apontando para possíveis efeitos subletais.

Dessa forma, conclui-se que *Pomacea* apresenta mecanismos eficazes de excreção de microplásticos, mas não está imune a impactos metabólicos associados à exposição.

Referências Bibliográficas

Barbosa, A. H. S., Silva, C. S. P., Araújo, S. E., Lima, T. B. B., & Dantas, I. M. (2016, novembro). Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade da água em um trecho do rio Apodi-Mossoró. *Holos*, 7, 121–132. <https://doi.org/10.15628/holos.2016.4183>

Beghelli, F. G. S., et al. (2014, setembro). Spatial and temporal heterogeneity in a

subtropical reservoir and their effects over the benthic macroinvertebrate community. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 26(3). <https://doi.org/10.1590/s2179-975x2014000300010>

Bugatti, C., Almeida, K. C., Guimarães, M. S. de A., & Amâncio, N. de F. G. (2023, janeiro). Microplásticos e nanoplásticos e sua relevância na saúde humana: Uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i1.39302>

Chae, Y., & An, Y.-J. (2020). Nanoplastic ingestion induces behavioral disorders in terrestrial snails: Trophic transfer effects via vascular plants. *Environmental Science: Nano*, 7(3), 975–983. <https://doi.org/10.1039/c9en01335k>

Gaylarde, C., Baptista-Neto, J. A., & Fonseca, E. M. da. (2021, maio). Plastic microfibre pollution: How important is clothes' laundering? *Heliyon*, 7(5), e07105. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07105>

Habdija, I., Lajtner, J., & Belinic, I. (1995, janeiro). The contribution of gastropod biomass in macrobenthic communities of a karstic river. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie Und Hydrographie*, 80(1), 103–110. <https://doi.org/10.1002/iroh.19950800113>

Hayes, K. A., Burks, R. L., Castro-Vazquez, A., Darby, P. C., Heras, H., Martín, P. R., Qiu, J.-W., Thiengo, S. C., Vega, I. A., & Wada, T. (2015, abril). Insights from an integrated view of the biology of apple snails (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 58(1–2), 245–302. <https://doi.org/10.4002/040.058.0209>

Mardones, M. L., et al. (2021, setembro). Parents living in water, embryos developing in air: Respiratory adaptations to use both environments in the freshwater gastropod *Pomacea figulina* (Gastropoda, Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 87(3), 1–7. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyab030>

Miller, M. E., Hamann, M., & Kroon, F. J. (2020, outubro). Bioaccumulation and biomagnification of microplastics in marine organisms: A review and meta-analysis of current data. *PLOS ONE*, 15(10), e0240792. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240792>

Novais, W. D. L., & Macioszek, P. F. (2021, outubro). Identificação de gastrópodes límnicos em reservatórios utilizados para abastecimento público: Importância para segurança hídrica. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(4), 4877–4883. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-005>

Pontes, N. de A. (2019). Efeito dos microplásticos no desenvolvimento do caranguejo de água doce *Dilocarcinus pagei* capturados em Itacoatiara (AM), Brasil [Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Amazonas].

Queiroz, M. E. F. de Schäffer, A. L., Villela, A. C. A. S., Martins, D. E. M. e, & Silva, P. H. T. da. (2018, dezembro). Utilização de macroinvertebrados bêntônicos como bioindicadores em córrego urbano de Conceição do Araguaia-PA. *Sustentabilidade em Debate*, 9(3), 96–110. <https://doi.org/10.18472/sustdeb.v9n3.2018.18378>

Rodrigues, C. C., Salla, R. F., & Rocha, T. L. (2023, fevereiro). Bioaccumulation and ecotoxicological impact of micro(nano)plastics in aquatic and land snails: Historical review, current research and emerging trends. *Journal of Hazardous Materials*, 444, 130382. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130382>

Rodrigues, C. C. (2023). Efeito de microplástico isolado e em mistura com o moluscicida niclosamida no caramujo *Biomphalaria glabrata* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás].

Tallarico, L. F., Borrelly, S. I., Hamada, N., Grazeffe, V. S., Ohlweiler, F. P., Okazaki, K., Granatelli, A. T., Pereira, I. W., Pereira,

C. A. de B., & Nakano, E. (2014, dezembro). Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.005>

Tamuang, W., et al. (2023). Occurrence of microplastics in freshwater gastropods from a tropical river (U-Taphao, southern Thailand). *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.7717/peerj.14861>

Thiengo, S. C. (1995). Família Pilidae. In F. S. Barbosa (Ed.), *Tópicos em malacologia médica* (pp. 50–69). Editora Fiocruz.

Vendramini, B. M., & Arruda, E. P. de. (2022, junho). Freshwater mollusk species of Itupararanga Reservoir, São Paulo, Brazil. *Check List*, 18(3), 629–708. <https://doi.org/10.15560/18.3.629>

Xu, X., Wong, C. Y., Tam, N. F. Y., Lo, H.-S., & Cheung, S.-G. (2020, maio). Microplastics in invertebrates on soft shores in Hong Kong: Influence of habitat, taxa and feeding mode. *Science of the Total Environment*, 715, 136999. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136999>

Agradecimentos

Ao Grupo de Pesquisa em Contaminação Plástica (GPPP) da UFSCar, campus de Sorocaba e a Secretaria Geral de Relações Internacionais (SRInter) da UFSCar.

Financiamento

Pró-Reitoria de Pós-Graduação (ProPG) da UFSCar, Secretaria geral de Relações Internacionais (SRInter) da UFSCar e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

31.- Aguas

Modelo de Intervención para la Mejora del Abastecimiento de Agua Potable en Santiago – Misiones

Autor: Arregui, Lucerito; lucearregui@fiuna.edu.py

Co-autor(es): Cabral, Hugo; Chamorro, Lucas; Gil, Ilse

Orientador/a: Martínez, Miguel; miguel.martinez@ing.una.py

Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ingeniería

Resumen

El trabajo propone un modelo de intervención para mejorar el abastecimiento de agua potable en Santiago, Misiones. Se realizó un diagnóstico técnico–operativo que identificó deficiencias en la red, como baja presión y cobertura limitada. Para ello, se recopilaron datos topográficos, registros técnicos y mediciones de campo, complementados con encuestas a usuarios y monitoreo de caudales y presiones. Con esta información se elaboró y calibró un modelo hidráulico que representó el estado actual de la red y permitió proyectar escenarios considerando el crecimiento poblacional. Se evaluaron dos alternativas de mejora: (i) cierre de anillos principales y (ii) sectorización con tanque elevado. Ambas mostraron mejoras en presión, continuidad y eficiencia, aunque la primera fue seleccionada por su menor inversión y viabilidad técnica. La evaluación económica arrojó un Valor Actual Neto positivo y una Tasa Interna de Retorno superior a la tasa de descuento, confirmando la rentabilidad del proyecto. También se plantearon medidas complementarias, como instalación de medidores domiciliarios, desinfección del sistema y reducción de pérdidas. El modelo constituye una herramienta replicable en localidades con redes de distribución deficientes.

Palabras clave: red de distribución, agua no contabilizada, modelo hidráulico

Introducción

El acceso universal al agua potable es uno de los principales retos de desarrollo sostenible a nivel mundial. En muchas comunidades urbanas y rurales, este derecho humano fundamental aún no se garantiza plenamente, debido a deficiencias estructurales, operativas y de planificación. Tal es el caso de la ciudad de Santiago, ubicada en el departamento de Misiones, Paraguay, donde el sistema de agua potable, originalmente proyectado en 1983, ha superado su periodo de diseño y muestra señales evidentes de desgaste e insuficiencia ante la creciente demanda poblacional.

Entre los principales problemas identificados se encuentran: la pérdida de presión en sectores altos, roturas frecuentes por obsolescencia de las tuberías, extensiones no planificadas de la red y un preocupante índice de Agua No Contabilizada (ANC), que asciende al 50%. Además, se evidencia la ausencia de registros actualizados, lo cual dificulta la operación eficiente del sistema y la toma de decisiones basada en evidencia.

Frente a esta problemática, se plantea la necesidad de un modelo de intervención integral, que contemple desde el diagnóstico hidráulico hasta la evaluación económica y ambiental de las soluciones.

El presente trabajo propone la utilización del software EPANET 2.2 para

simular el comportamiento de la red, calibrar escenarios reales y futuros, y diseñar alternativas de mejora orientadas a garantizar presión adecuada, cobertura y sostenibilidad operativa. Este modelo constituye una herramienta técnica replicable para sistemas similares en otras localidades del país.

Objetivos

Objetivo General

Diseñar un modelo de intervención para mejorar el abastecimiento de agua potable en Santiago – Misiones, basado en la simulación hidráulica mediante EPANET y en la evaluación técnica, operativa y económica de soluciones.

Objetivos Específicos

1. Modelar el sistema actual de distribución de agua potable utilizando el software EPANET 2.2, representando condiciones reales y proyectadas.
2. Calibrar el modelo hidráulico con datos de presión recolectados en campo, garantizando su validez técnica.
3. Simular escenarios de mejora mediante distintas alternativas de intervención, como cierre de anillos y sectorización.
4. Evaluar el comportamiento hidráulico de la red en cada escenario, considerando presión, caudales,

conforme a la presión mínima exigida por ERSSAN (≥ 10 m.c.a.).

5. Analizar la viabilidad económica de las alternativas propuestas mediante indicadores como inversión total, costo por conexión, VAN y TIR.
6. Seleccionar la alternativa óptima y establecer un plan de implementación gradual, con base en criterios técnicos, económicos y de sostenibilidad.

Materiales y Métodos

Para el desarrollo del modelo de intervención, se siguió una metodología estructurada basada en recolección de datos reales, simulación hidráulica y análisis comparativo de alternativas:

1. Recolección de información técnica: Se utilizó el plano topográfico con curvas de nivel, catastro de redes y memoria técnica del diseño original, provista por la Junta de Saneamiento, la Municipalidad local y SENASA.
2. Mediciones de campo: Se midieron caudales a la salida del tanque de distribución durante 12 días consecutivos mediante caudalímetro ultrasónico, con registros horarios. También se tomaron presiones en puntos estratégicos para la calibración.
3. Software de modelado hidráulico: Se aplicó EPANET 2.2 para representar hidráulicamente la red,

ingresando nodos, tuberías, elevaciones, diámetros, rugosidades y demandas.

4. Construcción del modelo hidráulico: Se representó el estado actual de la red, asignando demandas con el método de áreas en función de la densidad poblacional y cobertura.
5. Calibración: Se ajustaron las rugosidades internas de las tuberías según material y antigüedad.
6. Simulación de escenarios futuros: Se proyectó el crecimiento poblacional a 20 años mediante una tasa geométrica y se ajustaron las demandas nodales. El sistema mostró puntos críticos con presiones inferiores al mínimo normativo, afectando la continuidad en zonas elevadas y periféricas. Se estimó el índice de Agua No Contabilizada (ANC) en 50%, utilizándose como indicador de eficiencia y criterio fundamental para justificar la intervención. Como una de las medidas correctivas, se propuso la instalación de medidores domiciliarios para optimizar la medición y el control del consumo. Asimismo, se aplicó el concepto de Balance Hídrico recomendado por el PNUD (2017), confirmándose

que el ANC del sistema supera el valor ideal ($\leq 33\%$) y se clasifica en la categoría de muy alto.

Tabla 1. Rangos del Índice de ANC

Índice	Rango
Menos o igual a 33%	Ideal
34% - 41%	Bajo
41% - 46%	Medio
46% - 52%	Alto
Mayor al 52%	Muy Alto

Fuente: Guía Básica para la reducción del agua no contabilizada – PNUD.

- Evaluación de alternativas: Se analizaron dos escenarios: (i) cierre de anillos principales y (ii) sectorización con tanque elevado, ambos cumpliendo parámetros exigidos por ERSSAN.
- Evaluación económica: Se elaboraron planillas de costos, estimando inversión total y costo por conexión. La alternativa 1 (cierre de anillos) presentó un VAN positivo y una TIR del 11,38%, superior a la tasa de descuento (6%).

Resultados y Discusión

El desarrollo del modelo hidráulico de la red de distribución de agua potable de Santiago – Misiones permitió analizar su desempeño bajo

condiciones actuales y proyectadas, así como la efectividad de las alternativas técnicas propuestas. A través del software EPANET 2.2 se simularon cinco escenarios:

Escenario 1 – Modelo inicial

Este escenario representó el sistema existente con datos de campo, catastro y topografía. Se verificaron deficiencias de presión en barrios elevados como Fátima y San Miguel, con valores por debajo del mínimo exigido por ERSSAN (10 m.c.a.).

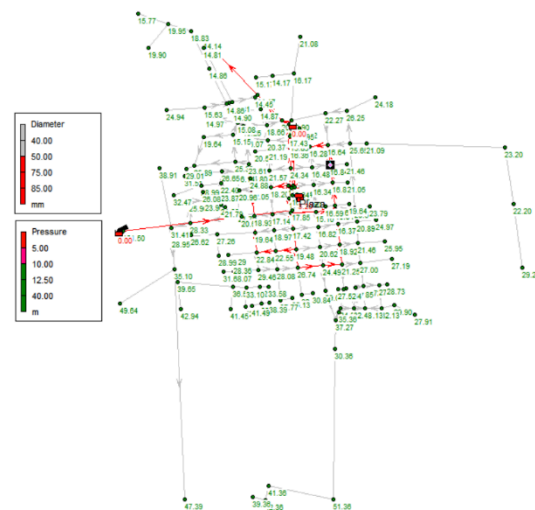


Figura 1. Resultados de Presión en el escenario 1 en EPANET.

Fuente: Propia.

Escenario 2 – Modelo calibrado

Para la calibración del modelo hidráulico se utilizó la ecuación de Hazen–Williams, que relaciona el caudal, la longitud y el diámetro de la tubería con el coeficiente de rugosidad (C). Este parámetro es fundamental, ya que refleja las condiciones internas

de las tuberías y determina las pérdidas de carga en la red.

Tabla 2. Coeficientes de rugosidad de Hazem-Williams para diferentes materiales.

Material	C
Asbesto cemento	140
Latón	130 - 140
Ladrillo de saneamiento	100
Hierro fundido nuevo	130
Hierro fundido, 10 años de edad	107-113
Hierro galvanizado	120
Vidrio	140
Plomo	130-140
Plástico (PE, PVC)	140-150
Tubería Lisa	140

Fuente: Arrocha, 1980

Con base en mediciones de presión realizadas en campo, se ajustaron los valores de C según el material y la antigüedad de las conducciones, obteniendo un modelo más ajustado a la realidad del sistema. La Figura 2 muestra la tendencia decreciente del coeficiente de rugosidad con los años de servicio: tuberías nuevas presentan

valores cercanos a 140, mientras que tuberías con más de 40 años reducen su C a valores de 60–70.

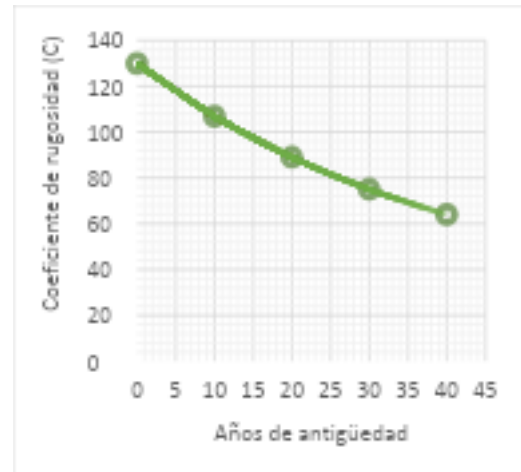


Figura 2. Variación del coeficiente de rugosidad (C) de Hazen-Williams en función de la antigüedad de la tubería.

Nota: Los valores a 40 años corresponden a una extrapolación de la tendencia reportada en la literatura (Arocha, 1980; Saldarriaga, 2007).

Fuente: Adaptado de Arocha (1980) y Saldarriaga (2007).

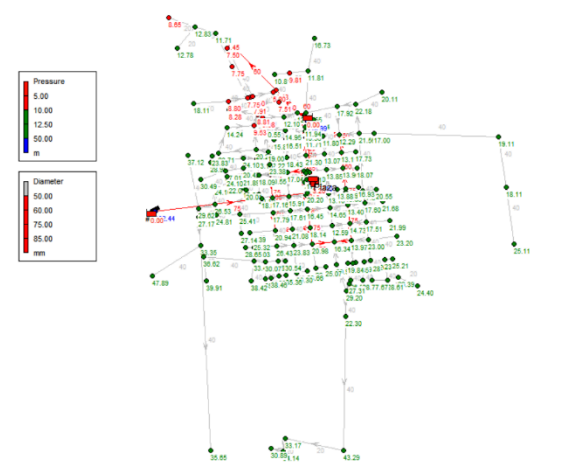


Figura 3. Resultados de Presión del Escenario 2 en EPANET.

Fuente: Propia

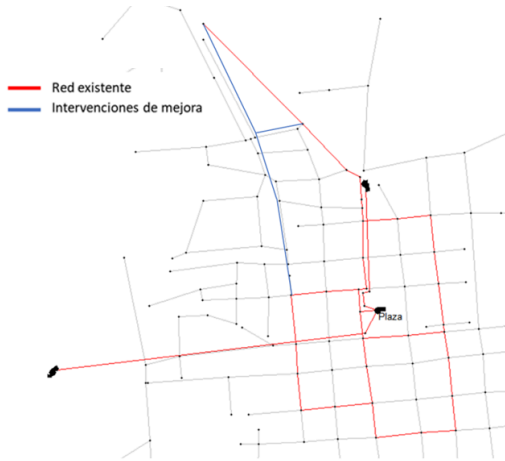


Figura 7. Alternativa de solución 1.

Fuente: Propia.

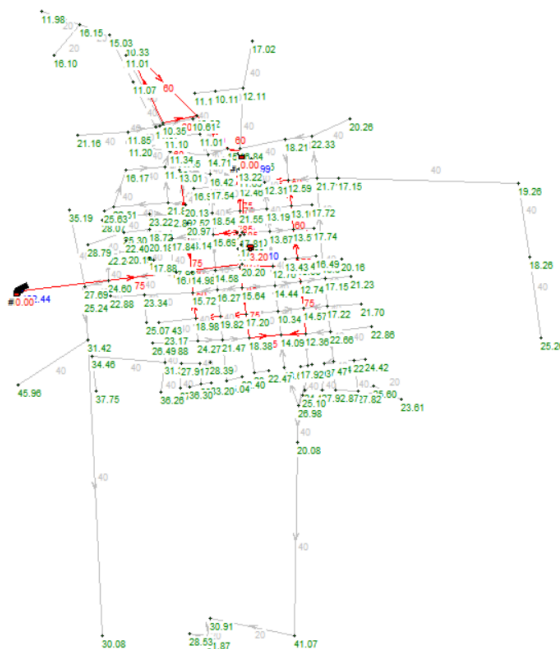


Figura 8. Resultados de Presión del Escenario 4 en EPANET

Fuente: Propia

Escenario 5 – Alternativa 2
(sectorización con tanque elevado)

Se propuso la instalación de un nuevo tanque elevado de 10 m³ y 17 m de altura en el predio del Pozo San

Isidro, además del cierre de un anillo adicional.

También presentó mejoras en presión y estabilidad, aunque con mayor costo de inversión y sin ventajas técnicas adicionales relevantes frente al otro escenario.

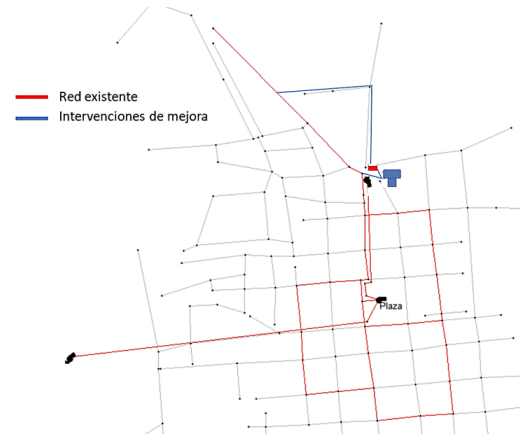


Figura 9. Alternativa de solución 2.

Fuente: Propia

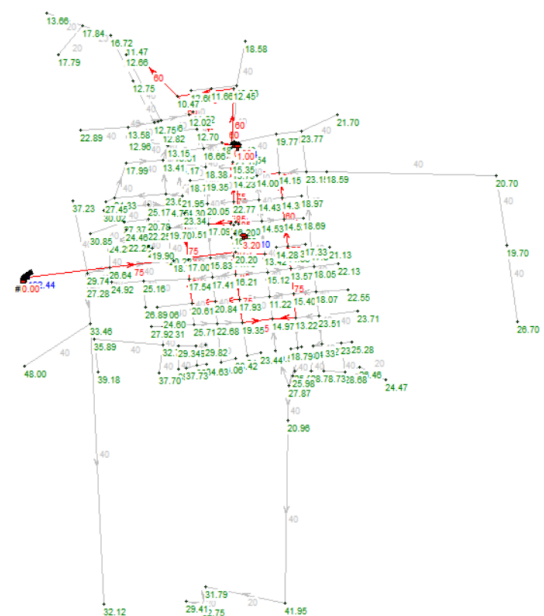


Figura 10. Resultados de Presión del Escenario 5 en EPANET

Fuente: Propia

Comparación y selección final

Desde el punto de vista hidráulico, ambas alternativas fueron satisfactorias. Sin embargo, la evaluación económica reveló una diferencia significativa: la Alternativa 1 implicó una inversión de Gs. 358.557.734, mientras que la Alternativa 2 ascendió a Gs. 420.094.684.

El análisis financiero con VAN y TIR favoreció a la Alternativa 1, por lo cual fue seleccionada como la propuesta final del modelo de intervención.

Conclusiones

El presente trabajo desarrolló un modelo de intervención para la mejora del sistema de abastecimiento de agua potable en Santiago – Misiones, empleando la simulación hidráulica en EPANET como herramienta principal de análisis. La modelación y calibración del sistema existente permitieron detectar deficiencias operativas, tales como presiones inadecuadas en zonas elevadas y la vulnerabilidad frente al crecimiento proyectado de la demanda.

Se evaluaron dos alternativas técnicamente viables: cierre de anillos y sectorización con tanque elevado. Ambas mejoraron significativamente las condiciones de presión y

distribución; sin embargo, el análisis económico definió la selección final. La Alternativa 1 (cierre de anillos) resultó la opción más conveniente, al requerir menor inversión, presentar un VAN positivo y alcanzar una TIR superior a la tasa de descuento.

Como medida complementaria, se propuso la instalación de medidores domiciliarios con el fin de reducir el índice de Agua No Contabilizada (ANC), mejorar la medición del consumo y optimizar la gestión del recurso.

En síntesis, el modelo planteado no solo demostró ser eficaz y económicamente sostenible, sino que también constituye una herramienta replicable en otras localidades con problemáticas similares en sus redes de distribución.

Bibliografía

- Arocha Ravelo, S. (1980). Abastecimientos de agua: Teoría y diseño. Caracas: Ediciones Vega S.R.L.
- Asociación Brasileña de Normas Técnicas. (1992). NBR 12211: Estudios de diseño de sistema de abastecimiento público de agua. Brasil. Asociación Brasileña de Normas Técnicas. (1994). NBR 12218: Proyecto de redes de distribución de

- agua para abastecimiento público. Brasil.
- Ente Regulador de Servicios Sanitarios (ERSSAN). (2003). Ley N.º 1614/2000: General del marco regulatorio y tarifario del servicio de provisión de agua potable y alcantarillado sanitario para la República del Paraguay. Asunción: ERSSAN.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2017). Metodología de la investigación (6.ª ed.). México: McGraw-Hill.
- Mokate, K., & Castro, R. (2018). Evaluación económica y social de proyectos de inversión (2.ª ed.). Bogotá: Universidad de los Andes.
- Netto, J. M. de A. (1998). Manual de hidráulica (7.ª ed.). São Paulo: Blucher.
- Organización Panamericana de la Salud. (2005). Guía para el diseño de redes de distribución en sistemas rurales de abastecimiento de agua. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org>
- Rodríguez García, D., & Abarca Álvarez, M. de los Á. (2017). Guía básica para la reducción del agua no contabilizada. San José, Costa Rica: Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).
- Saldarriaga, J. (2007). Hidráulica de tuberías: Abastecimiento de agua, redes y riegos (3.ª ed.). México: Alfaomega.
-

Impacto de la pandemia COVID-19 en la prevalencia del Síndrome de Burn Out en el Recurso Humano en Salud de tres terapias intensivas de la ciudad de Bahía Blanca.

Autor: Giuffre, Candela V¹, Giuffrecande@gmail.com

Co-autor(es): Dona, María Guadalupe T²; Cappella, Rocío B³; Ojeda, Micaela J²; Mattei, Luciana¹; Davit Baridón, Nicolle S⁴; Scherñuk Schroh, Melina P⁴; Pereyra Huertas, Julieta⁵; Luini, Joaquin A¹; Atencio, Matias A¹; Boscardin, Candela¹; Esandi, Maria Eugenia⁶

Orientador/a: Duran, Lucas G, Lucasduran.10@gmail.com

Universidad Nacional del Sur

¹Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires.

²Servicio de Terapia Intensiva, Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero” de Bahía Blanca, Buenos Aires.

³Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires.

⁴Carrera de Psicología, Universidad Salesiana, Bahía Blanca, Buenos Aires.

⁵Departamento de Ingeniería, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires.

⁶Departamento de Economía, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires.

RESUMEN

La pandemia de COVID-19 impactó fuertemente en la salud mental del recurso humano en salud, particularmente en las terapias intensivas. El presente estudio transversal y descriptivo evaluó la prevalencia del síndrome de Burn Out (BO) en médicos y enfermeros de tres instituciones de Bahía Blanca en la etapa post-pandemia, mediante la aplicación del cuestionario Maslach Burnput Inventory complementado con variables sociodemográficas y laborales. Se encuestaron 80 trabajadores, de los cuales el 27,5% presento BO y el 17,5% se encontró en riesgo, alcanzando que 4 de cada 10 profesionales estuvieron afectados. Las dimensiones más comprometidas fueron el agotamiento emocional (57,5%) y la despersonalización (47,5), mientras que un 42,5% mostro baja realización personal. Se observó mayor prevalencia en médicos respecto de enfermeros, sin diferencias

estadísticamente significativas, y una fuerte asociación con el pluriempleo. Más del 50% de los trabajadores refirió asistencia a consultas psicológicas o psiquiátricas, reflejado la magnitud del desgaste crónico. Los hallazgos destacan la necesidad de estrategias institucionales de prevención, apoyo emocional y fortalecimiento organizacional para mitigar el impacto de BO en contextos críticos post-pandemia.

Palabras claves: Burn Out, Salud mental, COVID-19.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones y medio ambiente de trabajo (CyMAT) en el sector de la salud son cruciales para la prevención de riesgos laborales y el mantenimiento de la competitividad del sistema productivo. La pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto profundo en el sistema de salud debido a su rápida transmisión y alta letalidad, especialmente en grupos de riesgo. Expertos del The Global Preparedness Monitoring Board (GPMB) han destacado la insuficiente preparación global para futuras pandemias. Antonietti y colegas han propuesto un modelo integral de CyMAT que considera factores sociohistóricos y contextuales, aplicable tanto a áreas rurales como a entornos cerrados como las unidades de terapia intensiva. Este modelo es relevante para evaluar el Burn Out (BO) en el personal de salud, integrando evidencia teórica, empírica y testimonial para un análisis exhaustivo de los determinantes que afectan la salud mental del recurso humano en salud (RHS).

La pandemia de COVID-19 ha afectado significativamente la salud mental del personal de salud en Argentina y en todo el mundo. Una encuesta realizada por Ortiz et al. reveló la falta de comunicación clara, la escasez de equipos de protección personal y la ausencia de estrategias de apoyo como principales preocupaciones del personal. Estudios muestran que las crisis sanitarias generan estrés, ansiedad y temor en los trabajadores de la salud, quienes temen contagiar a sus familias y amigos. Investigaciones como las de Kang y Lai destacan altas tasas de depresión, ansiedad, insomnio y estrés entre los profesionales de la salud durante la pandemia. Dessors et al. analizaron el desgaste psíquico y mental debido a la exposición a riesgos, la reorganización de servicios y el conflicto por ausentismo. La OMS define el síndrome de BO como un resultado de estresores laborales crónicos, caracterizado por agotamiento, distanciamiento mental y reducción de la eficacia profesional. Silva-Gomes et al. Han subrayado que los factores asociados al BO están relacionados con la

organización y la gestión del trabajo, destacando la necesidad de condiciones laborales adecuadas y formación específica para enfrentar los desafíos de la pandemia. Específicamente a nivel de la localidad de Bahía Blanca, hubo que hacer frente a un crecimiento exponencial de los casos de COVID-19 durante cada una de las olas involucradas. Claro está que durante los últimos dos años ha habido grandes fluctuaciones en términos de la incidencia de la patología. El efecto de la vacunación como estrategia poblacional, la inmunidad adquirida por la exposición, las nuevas variantes de coronavirus, son algunos de las causas por las cuales se entiende que la pandemia ha llegado a una meseta a partir de la cual los sistemas de salud deberán adaptarse no sólo en términos del asistencialismo para la población sino de lo concerniente con el cuidado del RHS.

La ciudad de Bahía Blanca cuenta con siete centros hospitalarios, de los cuales dos son de gestión pública (uno provincial y otro municipal), ocupando ambas instituciones un lugar preponderante en la respuesta a la pandemia (por ejemplo, el Hospital Interzonal General Dr. Jose Penna al tener características de interzonal no solo participó de la atención local sino también de pacientes de la zona al ser centro de referencia de derivaciones). Ambas instituciones tuvieron una alta tasa

de ocupación durante la primer, segunda y tercer ola, siendo responsables de haber atendido al "80% de todos los pacientes enfermos de COVID-19" de la ciudad, con o sin cobertura social lo que exigió, por parte de los trabajadores, un esfuerzo muy importante para sostener la capacidad de respuesta de ambos hospitales.

Este hecho se tradujo en números alarmantes respecto al síndrome de BO en este tipo de trabajadores ya que en un estudio del presente grupo de investigación, se objetivó que el 18,7% (41/219) del total de los trabajadores del Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero (HMALL) reunió criterios compatibles con el Síndrome de BO, mientras que el 23,3% (51/219) se encontró en riesgo de padecerlo y el 58% (127/219) no lo tuvo. Por lo que el 42% de los mismos están en riesgo o ya se encontraban con el síndrome de BO instalado siendo números sumamente alarmantes a nivel local. Estos datos evidencian que la pandemia representó un gran impacto en la salud mental del RHS de los hospitales. Se entiende que el fenómeno del BO es dinámico y que puede verse afectado por los contextos específicos de cada individuo que conforma al RHS, más aún resulta necesario analizar la frecuencia del evento en contexto postpandemia partiendo de

una base sumamente afectada por el contexto pandemia.

OBJETIVOS

Objetivo primario

- Describir la prevalencia del síndrome de BO post pandemia COVID-19 en el RHS de tres terapias intensivas de Bahía Blanca.

Objetivos secundarios

- Analizar factores individuales y organizacionales asociados a una mayor prevalencia de este síndrome.
- Estimar la proporción de trabajadores de salud con síntomas incipientes o instalados de BO que fueron detectados por el sistema.
- Identificar estrategias para el abordaje del Síndrome de BO con las que cuentan cada institución hospitalaria.
- Comparar la prevalencia del Síndrome de BO entre instituciones públicas y privadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de corte transversal, descriptivo, que tuvo como población objetivo a enfermeros y médicos de Terapia Intensiva (TI). Se realizó un cálculo un tamaño muestral de 80 individuos para

una proporción esperada del 47% (obtenido por el presente equipo de investigación en una experiencia local previa que se condice con lo publicado a nivel nacional e internacional), con un nivel de confianza al 95%. Los resultados obtenidos se compararon con el estudio local realizados intra-pandemia por los mismos investigadores en donde se determinó la prevalencia del diagnóstico y sub diagnóstico del BO. De esta forma, se realizaron las comparaciones con los valores nacionales reportados para el BO previos a la pandemia y con los valores reportados intra-pandemia por el presente equipo de investigación.

Se trabajó con tres instituciones hospitalarias locales, el Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero (HMALL), el Hospital Interzonal General Dr. José Penna de Bahía Blanca (HIGA PENNA), y el Hospital de la Asociación Médica de Bahía Blanca Dr. Felipe Glasman (HAM) que se describen a continuación:

1.HMALL: Tiene un perfil de emergencias. En el contexto de pandemia, ocupó un lugar preponderante, atendiendo un gran flujo de pacientes, y teniendo altas tasas de ocupación durante la primera y segunda ola. En esta última, la ocupación de camas llegó a ser del 95-100%. Por tal motivo, tuvo un rol central en el manejo de la pandemia.

2.PENNA: Dependiente del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, cuya zona de influencia corresponde a la Región Sanitaria I. En el marco de la emergencia sanitaria tuvo un rol preponderante en la atención de pacientes tanto de la ciudad como de la zona, llegando a tener, la mayoría del tiempo, una ocupación de camas del 100%.

3.HAM: Es una institución sin fines de lucro y de carácter privado. Esta institución participó de manera activa durante la pandemia de COVID 19, siendo una de las instituciones privadas que más recibió pacientes mutualizados.

Unidad de análisis o población elegible:

- **Criterios de inclusión:** Se incluyeron los enfermeros y médicos de TI que den su consentimiento para participar en el estudio, que hayan trabajado al menos tres meses durante los últimos dos años en alguna de las tres instituciones ya mencionadas.
- **Criterios de eliminación:** Se excluyeron los trabajadores que respondan el cuestionario de recolección de datos con menos del 50% de los datos completados.

Instrumento de recolección de datos: Se empleó el cuestionario de Maslach Burn-Out Inventory, el cual es un cuestionario que detecta el síndrome de BO, validado al

castellano y para la población argentina. Este cuestionario, además de determinar la presencia del síndrome, demuestra el gradiente y las áreas que comprometen el desgaste profesional. Esta escala está compuesta por 22 ítems y los mismos se responden en una escala tipo Likert, es decir que las opciones van del 0 que sería “nunca” al 6 que sería “todos los días”. Entre los extremos está la opción 1 “pocas veces al año”, 2 “una vez al menos o menos”, 3 “unas pocas veces al mes”, 4 “una vez a la semana” y 5 “pocas veces a la semana”. Cuenta con tres subescalas (cansancio emocional, despersonalización, dificultad para el logro/realización) que hacen que los resultados sean más específicos.

Asimismo, se complementó el cuestionario con la formulación de preguntas específicas priorizando los determinantes de Atracción, Captación y Retención, con foco en las condiciones de empleo y trabajo, propuestos en el marco teórico que permitan describir la percepción del RHS en relación con este síndrome.

Definición operacional de las variables:

- **Síndrome de BO:** Se consideró como positivo cuando se obtengan puntuaciones altas en la escala de agotamiento emocional y en la escala de despersonalización y puntuaciones bajas en la escala de

realización personal. Asimismo, en caso de reunir dos de los tres criterios consideraremos que se encuentra en una categoría incipiente de presentar Burn-Out.

- **Subescala de agotamiento emocional:** Valora la vivencia de estar exhausto emocionalmente por las demandas del trabajo. Consta de 9 preguntas (1, 2, 3, 6, 8, 13, 14, 16, 20). Se determinó como puntuación baja 0-18; puntuación media de 19-26; puntuación alta de 27-54.
- **Subescala de despersonalización:** Valora el grado en que cada uno reconoce actitudes frialdad y distanciamiento. Está formada por 5 ítems (5, 10, 11, 15, 22.) Se determinó puntuación baja 0-5; puntuación media de 6-9; puntuación alta de 10-30.
- **Subescala de realización personal:** Evalúa los sentimientos de autoeficiencia y realización personal en el trabajo. Se compone de 8 ítems (4, 7, 9, 12, 17, 18, 19, 21.) Se determinó puntuación baja 0-33; puntuación media de 34-39; puntuación alta de 40-48.
- **Tiempo laboral:** Se midió en horas y fue referido por el encuestado en el apartado de la encuesta.
- **Rol del trabajador sanitario:** Los roles desempeñados pueden ser de

médico con cargo de planta permanente, médico residente, personal de enfermería.

- **Pluriempleo:** Se indagó acerca de los establecimientos sanitarios en donde se encuentren trabajando además del hospital por el cual fue encuestado.
- **Asistencia a consulta de salud mental:** Se determinó según lo referido por el encuestado pudiendo ser que asista a consulta de psiquiatría, psicología, ambas o a ninguna.
- **Hospital:** el HMALL, el Hospital Interzonal General Dr. José Penna, y el HAM.
- **Gestión del hospital:** público o privado.
- **Suficiencia de personal percibida:** referida por la pregunta específica en relacionada a si consideran si alcanza el personal que cumple sus mismas funciones.
- Otras variables medidas fueron la edad, género, familia a cargo, actividad de esparcimiento

Análisis estadístico: Las encuestas se codificaron numéricamente de forma consecutiva. Se realizó un análisis univariado para estimar los porcentajes de respuesta para cada ítem del cuestionario, estableciendo las medias y medianas para cada dimensión y un análisis bivariado con

la prueba de chi-cuadrado con tablas de clasificación cruzada para medir la asociación entre el BO y las horas de trabajo realizadas, el lugar de trabajo, el hospital, el rol desempeñado y pluriempleo, entre otros. Se consideró estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$. Se utilizó el software IBM SPSS 23.

Consideraciones éticas: El presente trabajo de investigación ha sido evaluado y aprobado por:

- El Comité de Ética de Investigación Hospital Interzonal General de Agudos Dr. José Penna, inscripto en el Registro Provincial de Comités de Ética en Investigación, dependiente del Comité de Ética Central en Investigación - Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, con fecha 23/07/10, bajo el N.º 009/2010, Folio 45, Libro 1, Reacreditación de fecha 30/08/22 con vencimiento del 30 de agosto de 2025. Si Usted tiene alguna pregunta relacionada con sus

derechos como participante en la investigación, puede contactarse con el Comité de ética del Hospital Interzonal General de Agudos Dr. José Penna, coordinadora Lic. Marisa Zapata, al teléfono 0291 4593685. a los teléfonos 0291-4593600. Int. 300- 408 Necochea y Láinez, (8000) Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

- El Comité Institucional de Bioética en Investigación del Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero de Bahía Blanca, inscripto en el Registro Provincial de Comités de Ética en Investigación, dependiente del Comité de Ética Central en Investigación - Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires con fecha 17/09/10, bajo el N° 017/2010, Folio 54, Libro 1. Última re-acreditación vigente en el corriente año. Tel: 4598484 - int 4381 de 08-14hs.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 132 trabajadores en el presente estudio mediante un muestreo aleatorizado y estratificado por hospital. Del total mencionado el 60% (48/80) perteneció al HMALL, mientras que

el 22.5% (18/80) perteneció al HIG Penna y el restante 17.5% (14/80) al HAM.

Del total del RHS, el 45% (36/80) eran enfermeros y el 55% (44/80) eran médicos. En cuanto al género, el 72.5% (58/80) de los encuestados eran mujeres. La edad

mediana de toda la población fue de 36 años (RI 12,75).

La mayoría de los encuestados, 40% (32/80) manifestó trabajar entre 40 y 48 horas semanales. El 32.5% (26/80) trabajó entre 30 y 36 horas semanales, mientras que el 27.5% (22/80) declaró una prestación de servicios menor a las 24 horas semanales. El 35% (28/80) refirió no trabajar en otra institución hospitalaria, mientras que el 37.5% (30/80) respondió afirmativamente a la pregunta refiriendo que trabaja en solo una institución más, el 12.5% (10/80) refirió trabajar en dos más,

mientras que el 15% restante (12/80) trabaja en más de dos instituciones extras.

Prevalencia del BO según el cuestionario MBI

En base a los resultados recolectados a través del cuestionario se obtuvo que el 27.5% (22/80) del total de los trabajadores reunió criterios compatibles con el Síndrome de BO, mientras que el 17.5% (14/80) se encontró en riesgo de padecerlo y el 65% (44/80) no lo tuvo. En la tabla 1 se describen los porcentajes de respuesta para cada uno de los ítems concerniente al MBI.

MASLACH BURNOUT INVENTORY	0	1	2	3	4	5	6
Me siento cansado/a al final de la jornada de trabajo	0	2,5	5,0	20,0	35,0	15,0	22,5
Me siento emocionalmente agotado/a por mi trabajo	0	12,5	12,5	32,5	25,0	5,0	12,5
Cuando me levanto por la mañana y me enfrente a otra jornada de trabajo me siento fatigado/a	1,3	15,0	20,0	25,0	18,8	13,8	5,0
Siento que trabajar todo el día con usuarios supone un gran esfuerzo y me cansa	1,3	13,8	16,3	30	13,8	11,3	13,8
Siento que mi trabajo me está desgastando. Me siento quemado/a con mi trabajo	2,5	15	12,5	16,3	26,3	11,3	16,3
Creo que trabajo demasiado	2,5	16,3	18,8	12,5	11,3	11,3	27,5
Trabajar directamente con usuarios me produce estrés	2,5	27,5	20,0	17,5	10,0	10,0	12,5
Me siento acabado en mi trabajo, al límite de mis posibilidades	12,5	27,5	17,5	5	18,8	11,3	7,5
Creo que estoy tratando a algunos usuarios como si fueran objetos impersonales	25	37,5	17,5	10	7,5	2,5	0
Me he vuelto más insensible con la gente desde que ejerzo esta ocupación	13,8	36,3	10	13,8	11,3	3,8	11,3
Pienso que este trabajo me está endureciendo emocionalmente	12,5	16,3	11,3	17,5	16,3	16,3	10,0
No me preocupa realmente lo que les ocurra a algunos de los usuarios	40,0	33,8	18,8	5,0	0	2,5	0,0
Creo que los usuarios me culpan de algunos de sus problemas	16,3	18,8	13,8	13,8	25	10	2,5
Tengo facilidad para comprender cómo se sienten los usuarios	0	0	3,8	3,8	20,0	38,8	33,8
Creo que trato con mucha eficacia los problemas de los usuarios	0	0	5,0	7,5	16,3	48,8	22,5
Me siento con mucha energía en mi trabajo	0	3,8	10,0	26,3	26,3	28,8	5,0
Siento que puedo crear con facilidad un clima agradable con los usuarios	0	0	7,5	7,5	13,8	48,8	22,5
Me siento motivado/a después de trabajar en contacto con usuarios	1,3	8,8	12,5	22,5	20,0	30,0	5,0
Creo que consigo muchas cosas valiosas en este trabajo	2,5	15,0	5,0	27,5	17,5	26,3	6,3
En mi trabajo trato los problemas emocionalmente con mucha calma	2,5	2,5	12,5	15,0	15,0	32,5	20,0

Tabla 1: Porcentaje de respuestas por ítem del cuestionario

Al analizar globalmente las dimensiones se obtuvieron puntuaciones altas en un 57.5% (46/80) de los encuestados para la dimensión de Agotamiento Emocional, y un 47.5% (38/80) de los encuestados para la

dimensión de Despersonalización, mientras que el 42.5% (34/80) obtuvo puntuaciones bajas en la dimensión de Realización Personal.

Asociación entre el síndrome de BO y las variables estudiadas

El análisis bivariado mostró que la prevalencia de BO no fue diferente según la profesión (médicos 50%; enfermeros 40.9%, valor $P=0.416$, el rol (residente/staff) (33.5% los residentes y

45.9% del staff, valor $p=0.55$), percepción sobre necesidad de mayor cantidad de personal (insuficiente 15.7% y suficiente 14.3%, valor $p=0.068$). Respecto al análisis del síndrome de BO según el tipo de gestión hospitalaria se visualiza en la tabla 2.

			BO			Total
			Burn Out	Riesgo de Burn Out	Sin Burn Out	
Pluriempleo	Si	Recuento	17	6	21	44
		% dentro de pluri	38,6%	13,6%	47,7%	100,0%
	No	Recuento	5	8	23	36
		% dentro de pluri	13,9%	22,2%	63,9%	100,0%
Total		Recuento	22	14	44	80
		% dentro de pluri	27,5%	17,5%	55,0%	100,0%

Tabla 3 – BO y pluriempleo

			BO			Total
			Burn Out	Riesgo de Burn Out	Sin Burn Out	
TIPO DE GESTION	Privada	Recuento	4	0	10	14
		% dentro de TIPO DE GESTION	28,6%	0,0%	71,4%	100,0%
	Pública	Recuento	18	14	34	66
		% dentro de TIPO DE GESTION	27,3%	21,2%	51,5%	100,0%
Total		Recuento	22	14	44	80
		% dentro de TIPO DE GESTION	27,5%	17,5%	55,0%	100,0%

Tabla 2: Asociación entre el BO y el tipo de gestión hospitalaria

En cuanto al análisis del BO con la asistencia de salud mental, se identificó que el 42,5% (34/80) de los trabajadores realiza terapia psicológica, mientras que el 7,5% (6/80) realiza terapia dual (psicológica y psiquiátrica), siendo solo el 5% (4/80) del total aquellos que realizan terapia psiquiátrica exclusivamente. Al comparar la variable psicoterapia de algún tipo vs presencia de BO se obtuvo un valor $p = 0,322$.

Por último, al analizar la asociación entre el pluriempleo, el 38,6% ya está en BO, mientras que solo el 13,9% de quienes no tienen pluriempleo presentan BO. Valor $P 0.045$. Tabla 3.

DISCUSIÓN

Este estudio proporciona información sobre la ocurrencia y el subdiagnóstico del síndrome de BO en el personal de salud

desde una perspectiva integral, considerando factores individuales y organizacionales que se agravaron tras la pandemia de COVID-19. Los resultados mostraron que una elevada proporción del personal de salud en servicios críticos experimentaron el síndrome o estuvieron en riesgo de padecerlo. Estos hallazgos resaltan la necesidad de incorporar planes de apoyo emocional y cuidado de la salud mental en las políticas y estructuras institucionales para asegurar un entorno laboral saludable y sostenible, y garantizar una atención de calidad a los pacientes en el contexto postpandemia.

Se evidenció que 1,5 de cada 10 trabajadores tuvieron BO y si se considera también aquellos en riesgo, esta relación sería 4 de cada 10. Las particularidades de los servicios de terapia intensiva, como la cantidad de camas disponibles y la relación personal de salud-paciente, podrían tener un papel importante en la explicación de este patrón. Por consiguiente, es crucial destacar que el aumento sustancial en la demanda de atención médica, generando un consiguiente desgaste emocional vinculado a la prestación de servicios a un número notablemente mayor de pacientes en estado crítico.

Existe evidencia que indica que los sectores más afectados por lo general son las terapias intensivas siendo una realidad

que se condice con los presentes datos identificados en nuestro estudio en donde la TI contó con la mayor proporción de BO entre sus trabajadores. Es menester destacar que dicho personal podría tener un mayor índice de BO en períodos fuera de la pandemia dada la gran demanda laboral que genera el sector, por lo que puede haber una subestimación en la sintomatología presentada durante la pandemia. Esta aclaración es necesaria puesto que al comparar estos datos con los observados en el estudio realizado durante la pandemia por el mismo equipo de investigación se observa una gran diferencia en este apartado, habiéndose identificado al RHS de la terapia intensiva como los menos afectados por el síndrome de BO (8.7% durante la pandemia vs 27.5% post pandemia).viii Un estudio realizado en Argentina reveló que más del 80% de las enfermeras encargadas del cuidado de pacientes críticamente enfermos presentan niveles moderados a altos de BO. En contraste, en México, la prevalencia de BO en el personal de TI se encontró en un 10.4%.

En nuestro estudio, el personal médico padeció más BO que el personal de enfermería, lo que se contrapone a lo expuesto en otras publicaciones. Estudios han señalado la eficacia de los programas en salud mental dirigidos al RHS para mitigar el impacto del BO y mejorar su

resiliencia psicológica en tiempos de crisis, ya que niveles bajos de resiliencia se asocian significativamente con el riesgo de padecer BO. Estos programas incluyen prácticas como sesiones de terapia de grupo, capacitación en técnicas de relajación y mindfulness, así como recursos para el autocuidado.

La implementación de estrategias personalizadas, que tengan en cuenta las particularidades de cada área de trabajo, puede ser esencial para abordar las causas subyacentes del BO y fortalecer la resiliencia en el equipo médico y de enfermería. Estos programas deberían incluir a todo el staff y, en particular, al sistema de residencias. A pesar de la muestra reducida de residentes encuestados, se observó que en general el porcentaje de BO en este grupo fue significativamente superior al de otros miembros del staff. Appiani y col. señalaron este patrón, relacionado con factores como la menor antigüedad y la posiblemente extensa jornada laboral, altas demandas y carga de trabajo.

Un aspecto de relevancia que surge de este estudio es la elevada proporción de trabajadores que refirió asistencia a consultas psicológicas o psiquiátricas (más del 50% en total, considerando terapia individual, psiquiátrica o dual). Este hallazgo puede interpretarse como un

reflejo del grado de sensibilización alcanzado en torno a la salud mental durante y después de la pandemia, así como de la necesidad de apoyo profesional frente al desgaste crónico. Si bien no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la asistencia a consultas y la prevalencia de BO, este dato adquiere importancia práctica: evidencia que los trabajadores buscan apoyo, pero que las intervenciones aisladas no siempre son suficientes para contrarrestar los factores estructurales y organizacionales que sostienen el síndrome. En este sentido, la presencia de consultas debería ser vista como una oportunidad para fortalecer los dispositivos institucionales, integrando programas formales de acompañamiento psicológico y psiquiátrico dentro de las políticas de bienestar laboral.

Entre las limitaciones del estudio debe señalarse el diseño transversal, que impide establecer relaciones causales entre los factores analizados y la presencia de BO, limitando la interpretación a asociaciones estadísticas. Asimismo, el empleo de un cuestionario de autorreporte como el MBI puede estar sujeto a sesgos de deseabilidad social o subestimación de síntomas, dado que la percepción individual de desgaste no siempre coincide con criterios clínicos objetivos. Otra limitación radica en la restricción del análisis a tres instituciones de la ciudad de

Bahía Blanca, lo que dificulta extrapolar los hallazgos a otros contextos hospitalarios de la región o del país con características organizacionales diferentes.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio, el personal de terapia intensiva presentó los valores más altos de BO en relación con otros servicios, observándose además una mayor

prevalencia entre los médicos respecto a los enfermeros, aunque sin alcanzar diferencias significativas. Estos hallazgos ponen de manifiesto que, aun en la etapa post-pandemia, el impacto del desgaste laboral sigue siendo elevado y requiere estrategias institucionales sostenidas. Se subraya la relevancia de incorporar aspectos organizacionales en la prevención de esta condición dado el alto porcentaje de consultas psicológicas que hay.

BIBLIOGRAFÍA

1. Neffa, J.C (2015). Introducción al concepto de condiciones y medio ambiente de trabajo (CyMAT). Voces del Fénix, 6(7), 6-16. Universidad de Buenos Aires
2. Global Preparedness Monitoring Board. (2019). A world at risk: Annual report on global preparedness for health emergencies.
3. Antonietti, L et al. (2020). Condiciones y medio ambiente de trabajo en salud: modelo conceptual para áreas remotas y rurales. Revista Panamericana de Salud Pública, 44, e111.
4. Ortiz, Z, et al. (2020). Preocupaciones y Demandas frente a COVID-19: Encuesta al personal de Salud. Medicina (Buenos Aires). 80 (Supl. III), 16-24
5. Lai, J. et al. (2020). Factors associated with mental health outcomes among health care workers exposed to coronavirus disease 2019. JAMA Network Open, 3(3), e203976.
6. Dessors, D. et al. (1998). Organización del trabajo y salud: De la psicopatología a la psicodinámica del trabajo. Buenos Aires: Lumen
7. Silva-Gomes, R, Silva-Gomes VT. (2021). Pandemia de la COVID-19: síndrome de Burnout en profesionales sanitarios que trabajan en hospitales de campaña en Brasil. Enfermería clínica, 31(2), 128-129.
8. Duran, L.G et al (2024). Prevalencia y subdiagnóstico del síndrome de Burn Out en servicios críticos en el contexto de la pandemia COVID-19. Revista de

-
- la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba. 81(3)
9. Gilla, M.A., Giménez S.B. (2019). Adaptación y validación del Inventario de Burnout de Maslach en profesionales argentinos de la salud mental. *Liberabit*, 25(2), 179-193.
 10. Neira, C. (2004). Cuando se enferman los que curan. Buenos Aires: Gambacop.
 11. Lasalvia A, et al. (2021). Levels of burn-out among healthcare workers during the COVID19 pandemic and their associated factors: a cross-sectional study in a tertiary hospital of a highly burdened area of north-east Italy. *BMJ Open*. 11(1), e045127.
 12. Frade Mera, M.J, et al. (2009). Síndrome de burnout en distintas unidades de cuidados intensivos. *Enfermería intensiva*, 20(4), 131-140.
 13. Torre, M, Santos Popper, MC, Bergesio A. (2019). Prevalencia de burnout entre las enfermeras de cuidados intensivos en Argentina. *Enfermería Intensiva*, 30(3)
 14. Gualano MR et al. (2021). The Burden of Burnout among Healthcare Professionals of Intensive Care Units and Emergency Departments during the COVID-19 Pandemic: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(15), 8172
 15. Sigal AR, et al. (2020). Burnout y resiliencia en residentes de cardiología y cardiólogos realizando subespecialidades. *Medicina (B Aires)*. 80(2):138-142.
 16. Krasner MS et al. (2009). Association of an educational program in mindful communication with burnout, empathy and attitudes among primary care physicians. *JAMA*. 302: 1284-1293
 17. Fuertes MC, et al. (2013). Una experiencia de grupo de reflexión para manejo de entrevistas clínicas difíciles. *An Sist Sanit Navar*. 36: 455-466.
 18. Wert K et al. (2023). Communication Training Helps to Reduce Burnout During COVID-19 Pandemic. *Health Serv Res Manag Epidemiol*.
 19. Appiani FJ, et al. (2021). Prevalencia de estrés, síndrome de desgaste profesional, ansiedad y depresión en médicos de un hospital universitario durante la pandemia de COVID-19. *Arch Argent Pediatr*. 119(5):317-324
-



Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO



UNIVERSIDAD
NACIONAL ✦
DE TUCUMÁN



