



FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



Revista Digital del IPN, CIBA Tlaxcala - No. 13 mayo-agosto 2019

**PRODUCCIÓN DE
MEZCAL Y USO
SUSTENTABLE DEL
MAGUEY EN LA ZONA
CENTRO-MONTAÑA
BAJA DEL ESTADO DE
GUERRERO, MÉXICO**

**MINIREVIEW: USO DE
FITORREGULADORES
EN EL MANEJO DE
CULTIVOS AGRÍCOLAS**

**¿PUEDEN SER
LAS PLANTAS UNA
FUENTE VIABLE
PARA DESARROLLAR
BIOCOMBUSTIBLES?**

**PERSPECTIVAS
TERAPÉUTICAS EN
LA INFERTILIDAD
MASCULINA
CAUSADA POR VPH
Y ESTRÉS OXIDATIVO**

**EL TAMIZAJE
VIRTUAL:
ALTERNATIVA PARA
LA BÚSQUEDA E
IDENTIFICACIÓN DE
NUEVOS FÁRMACOS**

IPN

MARIO ALBERTO RODRÍGUEZ CASAS
DIRECTOR GENERAL

MARÍA GUADALUPE VARGAS JACOBO
SECRETARIO GENERAL

JORGE TORO GONZÁLEZ
SECRETARIO ACADÉMICO

JUAN SILVESTRE ARANDA BARRADAS
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

LUIS ALFONSO VILLA VARGAS
SECRETARIO DE EXTENSIÓN E INTEGRACIÓN SOCIAL

ADOLFO ESCAMILLA ESQUIVEL
SECRETARIO DE SERVICIOS EDUCATIVOS

REYNOLD RAMÓN FARRERA REBOLLO
SECRETARIO DE GESTIÓN ESTRATÉGICA

JORGE QUINTANA REYNA
SECRETARIO DE ADMINISTRACIÓN

ELEAZAR LARA PADILLA
SECRETARIO EJECUTIVO DE LA COMISIÓN DE OPERACIÓN
Y FOMENTO DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS

JOSÉ CABELLO BECERRIL
SECRETARIO EJECUTIVO DEL PATRONATO DE OBRAS E
INSTALACIONES

JOSÉ JUAN GUZMÁN CAMACHO
ABOGADO GENERAL

MODESTO CÁRDENAS GARCÍA
PRESIDENTE DEL DECANATO

CIBA IPN

DIANA VERÓNICA CORTÉS ESPINOSA
DIRECTORA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

MARÍA DEL CARMEN CRUZ LÓPEZ
SUBDIRECTORA ACADÉMICA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

ERIK OCARANZA SÁNCHEZ
SUBDIRECTOR DE VINCULACIÓN DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

VÍCTOR ERIC LÓPEZ Y LÓPEZ
EDITOR EN JEFE

GONZALO PÉREZ ARAIZA
SOPORTE TÉCNICO

PEDRO RAMÍREZ CALVA
DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN FRONTERA BIOTECNOLÓGICA

ISMAEL SÁNCHEZ GONZÁLEZ
DESARROLLO WEB

LILIA ESPINDOLA RIVERA
COORDINADORA ADMINISTRATIVA

CINTILLO LEGAL

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 7, número 13, mayo - agosto 2019, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/>, Editor responsable: Dr. Víctor Eric López y López. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, ISSN: 2448-8461, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Dr. Víctor Eric López y López., Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 23 de agosto de 2019.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

CONTENIDO

MENSAJE EDITORIAL 3

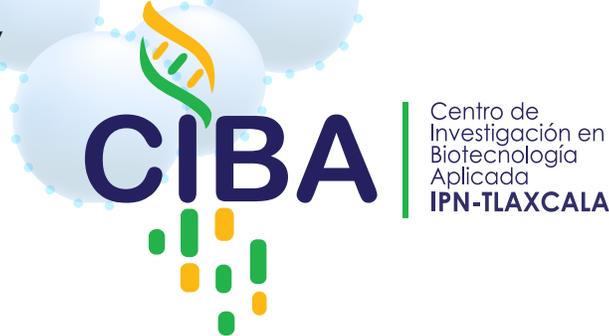
¿PUEDEN SER LAS PLANTAS
UNA FUENTE VIABLE PARA
DESARROLLAR BIOCOMBUSTIBLES? 4

PRODUCCIÓN DE MEZCAL Y USO
SUSTENTABLE DEL MAGUEY EN
LA ZONA CENTRO-MONTAÑA
BAJA DEL ESTADO DE GUERRERO,
MÉXICO 9

MINIREVIEW: USO DE
FITORREGULADORES EN EL MANEJO
DE CULTIVOS AGRÍCOLAS 14

PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS
EN LA INFERTILIDAD MASCULINA
CAUSADA POR VPH Y ESTRÉS
OXIDATIVO 19

EL TAMIZAJE VIRTUAL:
ALTERNATIVA PARA LA BÚSQUEDA
E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS
FÁRMACOS 27

The logo for CIBA (Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada IPN-TLAXCALA) features a stylized DNA double helix in green and yellow above the word "CIBA" in a bold, dark blue sans-serif font. Below the text are several vertical bars of varying heights in green and yellow, resembling a bar chart or a molecular structure.

CIBA

Centro de
Investigación en
Biotecnología
Aplicada
IPN-TLAXCALA

MENSAJE EDITORIAL

Agosto del 2019

Estimados lectores,

Estimados lectores, en este número continuamos con temas muy interesantes relacionados con el aprovechamiento, utilización y mejora de plantas. Por ejemplo, nos exponen como es que a partir de fuentes renovables como las plantas es posible desarrollar alternativas en la producción de energía a los combustibles de origen fósil.

Nos darán idea de cómo es la producción de Mezcal en el Estado de Guerrero y su perspectiva para una producción sustentablemente de la cadena productiva agave-mezcal, ya que actualmente no se aprovecha desde el punto de vista integral.

Adicionalmente conoceremos cuáles son los aspectos y aplicaciones más importantes de los fitorreguladores, sustancias activas producidas por las plantas que actúan a baja concentración y le ayudan a las plantas regular diversos procesos fisiológicos que tienen un impacto en los productos que consumimos.

Por otro lado, se expondrá cómo es que por medio de herramientas computacionales las interacciones moleculares entre compuestos con la estructura de las proteínas podemos ahorrar mucho tiempo de investigación para la determinación y obtención de nuevos medicamentos para diversas terapias actuales.

Por último, conoceremos el panorama de cómo se asocian factores de riesgo como el virus de papiloma humano y el estrés oxidativo con la infertilidad masculina, llevando a proponer terapias integrales para restaurarla.

“LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA”.

Dr. Victor Eric López y López
Editor en jefe

¿PUEDEN SER LAS PLANTAS UNA FUENTE VIABLE PARA DESARROLLAR BIOCOMBUSTIBLES?

Aline López-Vargas, Miriam Aguilar-Ugalde, Ricardo Fosado-Rodríguez, Jorge Gracida
Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Posgrado de Ciencias de la
Energía, Cerro de las Campanas S/N, Las Campanas, Querétaro, Qro. México C.P. 76010
gracidaj@netscape.net

RESUMEN

La escasez de recursos se encuentra entre los mayores retos a los que se enfrenta el planeta, con una creciente demanda de energía proveniente del sector transporte. La dependencia de los combustibles derivados del petróleo como fuente principal de energía ha tenido un impacto ambiental alarmante. Esta situación ha impulsado la búsqueda y el desarrollo de alternativas renovables para nuevas formas de energía, con un menor impacto al medio ambiente. Ante esta situación, las plantas se han convertido en una materia prima de interés para la producción de combustibles. Gracias a la biotecnología se han desarrollado herramientas de ingeniería genética para manipular e introducir mejoras en plantas. En el presente trabajo se abordan de manera general algunos aspectos claves, a partir de los cuales es posible obtener diversos biocombustibles como el biodiesel y bioetanol utilizando plantas como materia prima.

Palabras clave: Bioetanol, biodiesel, fermentación, plantas transgénicas, cultivos energéticos.

Abstract

The scarcity of resources is a great challenge on the planet, with an increasing energy demand from the transport sector. The dependence on oil-derived fuels as the main source of energy has had an alarming environmental impact. This situation has driven the search and development of renewable alternatives for new energy forms, with a lower impact on the environment. Faced with this situation, crops have become a raw material of interest for the production of fuels. Thanks to biotechnology, genetic engineering tools have been developed to manipulate and introduce improvements in plants. In the present work, some key aspects are addressed in a general way, from these crops is feasible to obtain various biofuels, such as biodiesel and bioethanol using plants as raw material.

Keywords: Bioethanol, biodiesel, fermentation, transgenic plants, energy crops.



INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que las plantas son fuente de alimentos y oxígeno, sin embargo, existen varios productos que pueden ser obtenidos a partir de ellas, por ejemplo, biocombustibles que son una alternativa para el consumo de combustibles derivados de petróleo.

El consumo de biocombustibles tiene un menor impacto ambiental y para su producción pueden utilizarse residuos renovables y de bajo costo como materia prima. Pero, ¿Cómo es que una planta puede ser una fuente de biocombustibles?

Las plantas son capaces de convertir energía luminosa (fotones) en energía química, utilizando el CO_2 del medio ambiente pueden sintetizar azúcares simples como la glucosa. Los azúcares son la unidad básica para la formación de estructuras complejas como celulosa y hemicelulosa. Estos polímeros se asocian a lignina y proteínas que en conjunto forman la pared celular, dando estructura y rigidez a las plantas. Los azúcares contenidos en las plantas pueden ser extraídos y convertidos en biocombustibles como butanol y etanol (Figura 1). Otro biocombustible de interés es el biodiesel, de igual forma puede ser obtenido a partir de plantas que acumulen grandes cantidades de lípidos.

De forma natural las plantas solo se encargan de producir lo necesario para sostener los procesos biológicos que llevan a cabo y no es suficiente para producir biocombustibles comercialmente. Es necesario incrementar el contenido de carbohidratos y lípidos en plantas, así como mejorar su capacidad de crecimiento en áreas no arables. Este escrito tiene como objetivo mostrar algunos de los avances que han tenido el diseño de plantas genéticamente modificadas en la mejora de la producción de biocombustibles.

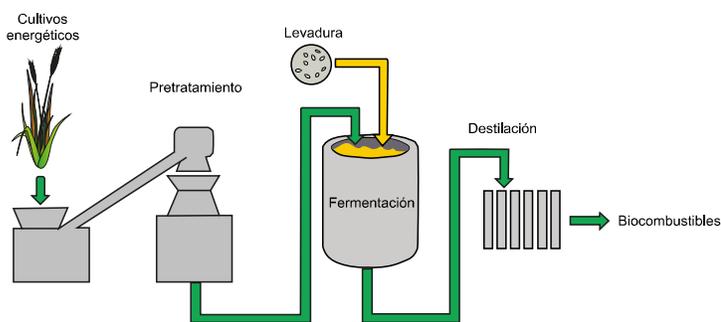


Figura 1. Proceso de producción de biocombustibles de segunda generación a partir de cultivos energéticos.

I. DESARROLLO EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS

México tiene un extenso territorio que cuenta con diversos climas, tipos de suelo y ecosistemas ideales para cultivar

una inmensa variedad de plantas. Las plantas destinadas a la producción de biocombustibles, son conocidas como cultivos energéticos, son una opción para evitar el uso de plantas de consumo humano. Los cultivos energéticos requieren ser robustos y tolerantes a condiciones desfavorables, como la escasez de nutrientes, sequías, temperaturas extremas, entre otras. Estas condiciones impiden que los cultivos alcancen su máximo crecimiento y desarrollo, por lo tanto, diversos grupos de investigación se dedican a identificar mecanismos en plantas que permitan superar diversos estreses.

Un mecanismo es la respuesta de defensa que tienen plantas como maíz a condiciones de sequía para lograr superar este estrés. El maíz lleva a cabo una serie de reacciones químicas en las que una enzima llamada ZmNAGK se encarga de mejorar la capacidad de retención de agua, aliviar el daño por el exceso de oxígeno e incrementar la acumulación de nutrientes, dando como resultado una mayor tolerancia a la falta de agua (Liu, et. al, 2019). Otras estrategias que utilizan plantas del desierto es la acumulación de un azúcar llamado trehalosa que funciona como osmoprotector de estructuras celulares. La trehalosa permite mantener casi íntegras proteínas y membranas, de esta forma la planta entra en un estado de dormancia y les permiten re-enverdecer al estar nuevamente en contacto con agua (Agrega, et. al, 2018).

Las plantas también se apoyan de los microorganismos que habitan el suelo para generar simbiosis, donde ambos generan condiciones favorables de crecimiento. Investigaciones actuales han demostrado que las raíces de especies de avena exudan ácidos orgánicos aromáticos que son compuestos químicos que les permite atraer cierto tipo de bacterias (Zhalnina, et. al, 2018). Este descubrimiento proporciona bases técnicas para manipular el entorno de la raíz en la planta y fomentar su crecimiento y desarrollo. Las estrategias previamente mencionadas en conjunto pueden incrementar los rendimientos de cosecha en cultivos energéticos al permitirles adaptarse a regiones no favorables para su crecimiento. Otra situación que no debe omitirse es la discusión del uso de tierras para cultivo como una limitante ética social. Lo anterior puede evitarse usando cultivos mejoradores de suelo, por ejemplo el betabel que crece en suelos con bajos requerimientos hídricos (Gracida y Díaz, 2014).

II. INCREMENTO EN EL CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS O FACILITAR ACCESO

Dentro de las ventajas que tiene el uso de biocombustibles es que el CO₂ del ambiente es utilizado por las plantas como materia prima, por lo tanto, tienen un menor impacto ambiental. El complejo de proteínas encargado de la captación del CO₂ en plantas se llama Rubisco. Este sistema no es tan eficiente como se desea, en ocasiones actúa de forma lenta, llegando a perder energía y disminuir la producción de azúcares. Rubisco también se encuentra en otras especies como las cianobacterias, donde ha demostrado ser más rápido. La integración del complejo de Rubisco eficiente en plantas ha demostrado un aumento en la asimilación de CO₂, debido a que es más específica y mejora el aprovechamiento de la energía, por lo tanto, aumenta la producción de azúcares (Lin, et. al, 2014). Este tipo de investigaciones dan lugar al diseño de cultivos energéticos con mayor contenido de azúcares para su fermentación en biocombustibles. El acceso a los azúcares en plantas requiere de un pretratamiento, donde se busca romper los polímeros como celulosa y xilano que conforman la pared celular. Estos componentes representan la mayor parte de la materia vegetal disponible. A diferencia de la celulosa, es más complicado extraer los monómeros del polímero xilano, debido a que algunos de sus componentes generan uniones más fuertes con lignina. Genes específicos como XAXI, miembro de la familia llamada GT6I de glicosiltransferasas, el cual se encarga de la síntesis de xilano, han sido identificados. En plantas de arroz genéticamente modificadas, donde el gen XAXI ha sido inactivado, la disponibilidad de los azúcares del polímero xilano fue más sencilla. Ello conlleva a la ruptura de las cadenas poliméricas dando como resultado el incremento de azúcares libres de un 60%. Esta ruptura es conocida como sacarificación, es un proceso clave para la producción de biocombustibles, debido a que representa más del 30% del costo de producción. Este mismo fenómeno se observó en plantas de *Arabidopsis* deficientes en xilano, mostrando el mismo comportamiento en el aumento del rendimiento de sacarificación. Estos hallazgos proveen nuevos conocimientos sobre el control de la síntesis del xilano, mismos que pueden generar incrementos en los rendimientos de producción de biocombustibles así como disminuir sus costos (Chiniquy, et. al, 2018). Otras investigaciones están dirigidas a descifrar la regulación de síntesis de cada polímero de azúcares individualmente, observando que proteínas conocidas como factores de transcripción se encargan de esta regulación bajo ciertas condiciones de estrés. Aprender a controlar la composición de la pared celular secundaria, permitiría maximizar el contenido de celulosa y hemicelulosa en las

plantas para contar con una mayor cantidad de azúcares para la producción de biocombustibles. No todos los polímeros vegetales contienen azúcares, por ejemplo, la lignina además de dificultar la ruptura de la materia vegetal genera componentes tóxicos no deseados. Controlando el porcentaje de lignina al límite mínimo que puede contener una célula vegetal y al mismo tiempo preserven la estructura de los vasos que las plantas utilizan para el transporte y reparto de nutrientes, repercutiría de manera positiva en procesos de pretratamientos y sacarificación de materia vegetal (Petersen, et. al, 2012).

III. INCREMENTAR EL CONTENIDO DE LÍPIDOS

El biodiesel es otro biocombustible que puede ser obtenido a partir de aceites vegetales (triglicéridos) presentes en las semillas. Para satisfacer la demanda de estos aceites es necesario aumentar el rendimiento de este tipo de cultivos.

Uno de los enfoques biotecnológicos para aumentar la producción de aceites en las semillas es aumentar la acción de ciertos factores de transcripción, proteínas que controlan la actividad de los genes; en este caso relacionados con la producción de los aceites. El interés en estos factores nace de su capacidad para controlar múltiples genes al mismo tiempo, por lo que se les conoce como factores maestros. Uno de estos factores es *leafy cotyledon 1* (LECI), el cual actúa en el desarrollo del embrión de la planta, y controla genes involucrados en la producción de ácidos grasos. Este gen se insertó en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* y en *Camelina sativa* (cultivo energético). En ambas plantas se obtuvo un incremento de más del 20% en el contenido de aceites en las semillas, sin observar ningún efecto adverso en el crecimiento de la planta, lo cual resalta la aplicación potencial del aumento de actividad de LECI para mejorar la producción de triglicéridos. Estrategias como estas prometen el diseño de varios cultivos con una mayor producción de aceites, como una solución a la creciente demanda de biocombustibles (Zhu, et. al, 2018).

REFLEXIÓN

Los biocombustibles son la única fuente alternativa de combustibles líquidos y a pesar de la introducción de autos eléctricos aún continúa la demanda de los sectores terrestre, aéreo y marítimo. En conjunto estos grandes avances en el diseño de plantas genéticamente modificadas permiten a los cultivos energéticos adquirir características de resistencia, acumulación de azúcares y lípidos, así como fijar mayores cantidades de CO₂ son indispensables para escalar a nivel industrial la producción de biocombustibles a partir de plantas.

Las plantas entonces se están convirtiendo en modelos multifacéticos dignos de estudiar más a detalle (Figura 2). Se espera que los biocombustibles provean el 26 % de la demanda de combustible total del sector transporte para el 2050, del cual el 90 % corresponda a bioetanol de segunda generación. En México se han realizado cambios significativos en las políticas públicas, para aumentar el desarrollo e implementación de biocombustibles. En ellas se contempla incluir leyes para el uso de cultivos energéticos, promoción del uso de bioetanol y biodiesel, así también de la venta de gasolina mezclada con gasolina (Carrillo, et. al. 2019). Sin embargo, la carrera por el dominio en la producción de biocombustibles no está definida y no será hasta dentro de un par de años que veremos los primeros efectos de estas políticas.

Agradecimientos: Los autores agradecen el apoyo otorgado por el proyecto UAQ-FOPER (2019-00617).

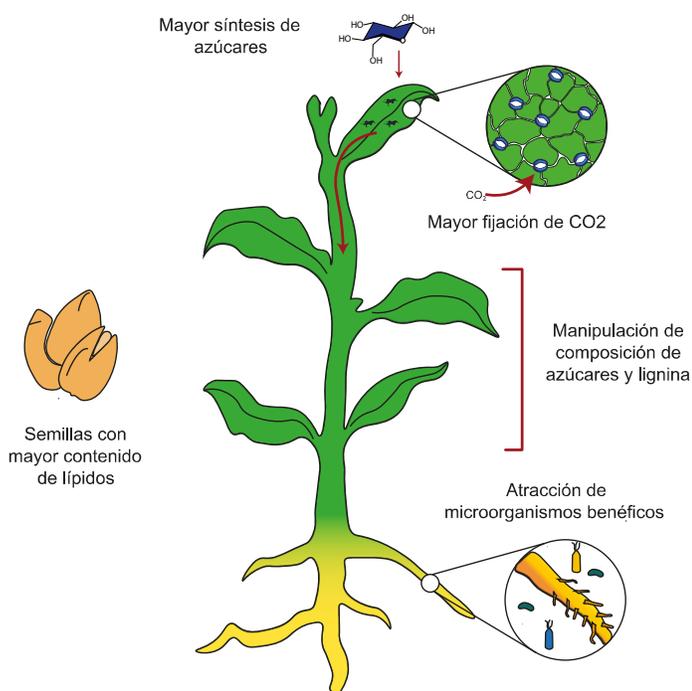


Figura 2. Avances en el diseño de plantas genéticamente modificadas para mejorar la producción de biocombustibles.

REFERENCIAS

Agreda, K.A., Cabrera, J.L., Medrano, R.R., Garzon, J.A., Xoconostle, B. 2018. Trehalose provides drought tolerance to genetically-modified maize in open field trials. *Pakistan Journal of Agriculture Science*. 55 (4): 1009-1020.

Carrillo, N., Rostro, M.J., de la Cruz, R., Ruiz, H.A. Iqbal, H.M.N., Parra, R. 2019. Current status and future trends of bioethanol production from agro-industrial waste in Mexico. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 102: 63-74.

Chiniquy, D.M., Sharma, V., Schultink, A., Baidoo, E. K., Rautengarten, C., Cheng, K., Carroll, A., Ulvskov, P., Harholt,

J., Keasling, J.D., Pauly, M., Scheller, H.V., Ronald, P.C. 2012. XAXI from glycosyltransferase family 61 mediates xylosyltransfer to rice xylan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109 (42): 17117-17122.

Gracida, J.N., y Pérez-Díaz, B. 2014. Factores previos involucrados en la producción de bioetanol, aspectos a considerar. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 30 (2): 213-227.

Lin, M.T., Occhialini, A., Andralojc, P.J., Parry, M.A.J. y Hanson, M.R. 2014. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature*. 513 (7519): 547-550.

Liu, W., Xiang, Y., Zhang, X., Han, G., Sun, X., Sheng, Y., Yan, J., Scheller, H.V. y Zhang, A. 2019. Over-Expression of a Maize N-Acetylglutamate Kinase Gene (ZmNAGK) Improves Drought Tolerance in Tobacco. *Frontiers in Plant Science*. 9:1-12.

Mortimer, J.C. 2019. Plant synthetic biology could drive a revolution in biofuels and medicine. *Experimental Biology and Medicine*. 244:323-331.

Petersen, P.D., Lau, J., Ebert, B., Yang, F., Verhertbruggen, Y., Kim, J.S., Varanasi, P., Suttangkakul, A., Auer, M., Loque, D., y Scheller, V. 2012. Engineering of plants with improved properties as biofuels feedstocks by vessel-specific complementation of xylan biosynthesis mutants. *Biotechnology for Biofuels*. 5:84.

Taylor-Teeple, M., Lin, L., de Lucas, M., Turco, G., Toal, W., Gaudinier, A., Young, N. F., Trabucco, G.M., Veling, M.T., Lamonthé, R., Handakumbura, P.P., Xiong, G., Wang, C., Corwin, J., Tsoukalas, A., Zhang, L., Ware, D., Pauly, M., Kliebenstein, D.J., Dehesh, K., Tagkopoulos, I., Breton, G., Prunedo-Paz, J.L., Anher, S.E., Kay, S.A., Hazen, S.P., y Brady S.M. 2015. An Arabidopsis gene regulatory network for secondary cell wall synthesis. *Nature*. 517: 571-575.

Zhalnina, K., Louie, K.B., Hao, Z., Mansoori, N., da Rocha U.N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., Bowen, B.P., Firestone M.K., Northen, T.R., Brodie, E.L. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology* 3: 470-480.

Zhu, Y., Xie, L., Chen, G.C., Lee, M.L., Loque, D., y Scheller, H.V. 2018. A transgene design for enhancing oil content in Arabidopsis and Camelina seeds. *Biotechnology for Biofuels*. 11:46.



PRODUCCIÓN DE MEZCAL Y USO SUSTENTABLE DEL MAGUEY EN LA ZONA CENTRO-MONTAÑA BAJA DEL ESTADO DE GUERRERO, MÉXICO.

Pável Sierra-Martínez

Unidad de Investigación Especializada en Microbiología-Facultad de Ciencias Químico
Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. pavelsierra6@hotmail.com

RESUMEN

La explotación de la materia prima en la cadena productiva magüey-mezcal debe transformarse en el aprovechamiento integral y sustentable de la planta para la generación de bienes y/o servicios múltiples, ello se logrará una vez que el productor y la sociedad en general conozcan la importancia del agave en la naturaleza y la contrasten con el beneficio que de él se obtiene contabilizando lo que al mismo tiempo se desperdicia durante el proceso. El Laboratorio de Análisis de la Calidad del Mezcal ha realizado estudios de diagnóstico sobre la calidad del mezcal que se produce y comercializa en la zona centro-montaña baja del estado de Guerrero, sobresaliendo que la calidad fisicoquímica, con base a la NOM-070-SCFI-1994, es muy buena, pero con áreas de mejora en algunos parámetros como en el contenido de metanol y acidez total, que sin llegar a ser de concentraciones exorbitantes, se ha atendido conjuntamente con los productores obteniendo resultados alentadores. El costo del producto por materia prima será muy caro mientras no se estandaricen métodos de aprovechamiento integral, para lo cual fue necesario hacer un análisis de balance de materia a lo largo del proceso de producción de mezcal.

Palabras clave: Magüey, Agave, Mezcal, Guerrero, sustentable

Abstract

The exploitation of the raw material in the magüey - mezcal production chain must be transformed into the integral and sustainable use of the plant for the generation of multiple goods and / or services, this will be achieved once the producer and society in knows the importance of the agave in nature and the contrast with the benefit obtained from it, accounting for what is at the same time wasted during the process. The Mezcal Quality Analysis Laboratory has carried out diagnostic studies on the quality of the mezcal produced and marketed in the central-lower mountain area of the state of Guerrero, highlighting that the physico-chemical quality, based on the NOM-070- SCFI-1994, is very good, but with areas of improvement in some parameters such as methanol content and total acidity, which without reaching exorbitant concentrations, has been attended together with the producers obtaining encouraging results. The cost of the product for raw material will be very expensive until standardization methods are used, for which it was necessary to make an analysis of the material balance throughout the mezcal production process.

Key words: Magüey, Agave, Mezcal, Guerrero, sustainable



INTRODUCCIÓN

En el estado de Guerrero existen aproximadamente 450 fábricas de mezcal, atendidas por poco más de 600 maestros mezcaleros, con 9 plantas envasadoras distribuidas en 6 regiones del estado, según los datos más recientes publicados por el Consejo Estatal de Mezcal-Mezcal Guerrero (CEMMEZCAL) y la Asociación de Productores de Mezcal (PROMEG) del estado de Guerrero, respectivamente (<http://www.mezcaldeguerrero.com/mezguerrero.html>, <https://novedadesaca.mx/guerrero-600-productores-mezcal/>). Respecto a la capacidad de producción de mezcal en los últimos años, ésta se ha mantenido en una producción aproximada de 1,400,000 litros cada año, no obstante hay un pronunciamiento desde INFORURAL en 2017 que refiere que la producción ascendió a 1,700,000 litros, cifra que nos promete que la industria maguey-mezcal ha ido en aumento, no obstante que solo el 23% de la producción esté certificado. El Comité Sistema Producto maguey-mezcal del estado de Guerrero, a través de su presidente, destacó que en 2017 Guerrero aún está en segundo lugar de producción de mezcal después de Oaxaca, con una producción importante pero aun desorganizada, teniendo su agrupación la convicción de que repuntará en corto plazo al primer sitio, lo cual representa un verdadero reto considerando que la brecha de producción entre los estados de Oaxaca y Guerrero es muy amplia, Oaxaca ha mantenido una producción que representa más del 80% en los últimos 7 años y Guerrero solo ha llegado a aportar solo el 3.5% del total de mezcal producido en el país. De las 20 marcas presentes en el estado, solo 12 han cumplido con los requisitos para su registro y de estas solo 3 tienen acceso a un mercado internacional (<https://www.inforural.com.mx/guerrero-produce-un-millon-700-mil-litros-de-mezcal-al-ano/>; Consejo Regulador de Mezcal, 2017; Pérez H. E., et al. 2016). Es posible que se encuentren ligeras inconsistencias en los datos de la literatura, pero en términos generales este es el panorama más acertado sobre el estatus de producción de mezcal en el estado de Guerrero. En cuanto al desarrollo industrial no siempre es positivo, sobre todo cuando no se han tomado las previsiones pertinentes que tienen que ver con el uso sustentable de los recursos naturales en coordinación con los beneficios obtenidos, es por ello que se consideró necesario realizar un análisis del como la industria que produce un mezcal de calidad en sabor y que cumple con la normativa, conlleva al desarrollo social utilizando al máximo la materia prima.

VINCULACIÓN CON EL SECTOR PRODUCTIVO MAGUEY-MEZCAL

Particularizando la producción al interior del estado, las regiones productoras por orden de importancia en volumen producido son: En la región Centro-Montaña baja del estado,

los municipio productores son: Zitlala, Chilapa, Mochitlán, Tixtla de Guerrero, Leonardo Bravo, Eduardo Neri y Chilpancingo de los Bravo. En la región Tierra Caliente en las sierras de Zirándaro, Coyuca de Catalán, Ajuchitlán y San Miguel Totolapan. En la región Norte, se fabrica en Pachivia y Xalostoc, del municipio de Ixcateopan de Cuauhtémoc, y en Apetlanca del municipio de Cuetzala del Progreso (<http://www.mediatecaguerrero.gob.mx/gastronomia/mezcal-guerrerenense/>). Lo anterior no significa, de ninguna manera que no exista producción en comunidades de otros municipios, es más, se produce mezcal de excelente calidad sensorial en pequeñas cantidades de forma artesanal e incluso ancestral, pero que por sus bajos volúmenes de producción, por fortuna o desafortunadamente, no han logrado trascender sus fronteras locales privando al mundo de esta bebida espirituosa.

El equipo de trabajo del Laboratorio de Análisis de la Calidad del Mezcal de la Universidad Autónoma de Guerrero, ha realizado investigaciones referentes a la calidad del producto terminado en más de 100 lotes diferentes, por lo menos, en 6 municipios de la zona centro-montaña baja del estado de Guerrero, encontrando que la gran mayoría del mezcal producido y comercializado en el mercado local, es de amplia aceptación sensorial y cumple con los parámetros referidos por la NOM-070-SCFI-1994. Se concluyó que los parámetros de mayor significancia en cuanto a la dificultad del proceso de aprobación por la norma antes referida fueron la acidez total y el contenido de metanol, no obstante que fue encontrado en el menor número de muestras, se precisa señalarlo por ser estos unos de los más recurrentes en el proceso de elaboración de mezcal en Guerrero y mayormente regulado por el Consejo Regulador del Mezcal (Pérez H. E., et al. 2016), siendo también complicada su eliminación o disminución en el producto una vez que ya se encuentra ahí. La Figura 1, nos muestra un resumen de lo aquí señalado.



Figura 1. Distribución porcentual de las muestras analizadas de acuerdo a los parámetros de calidad establecidos en la NOM-070-SCFI-1994. (Sierra-Martinez P., et al. 2019)

El trabajo de estrecha vinculación y asesoría directa con los productores nos ha permitido obtener datos de proceso significativos para la toma de decisiones en los que la confianza y el entendimiento del estudio, por parte del productor, nos posiciona como un asesor para sugerir, respetuosamente, alguna modificación al proceso.

Por citar un caso, mencionaremos que se han realizado cinéticas muy puntuales de cuantificación de metanol a lo largo de la destilación de fraccionamiento en diversos lotes, encontrando que la concentración de metanol es directamente proporcional al tiempo de destilación, dicho de otra forma, la fracción inicial y de mayor graduación alcohólica que se extrae del alambique (puntas), posee menor concentración de metanol que la última fracción recolectada y con menor contenido alcohólico (colas), ello nos permitió realizar cortes más precisos sobre el destilado, para obtener un producto con el contenido alcohólico deseable y dentro del parámetro indicado por la norma: 35-55 % de alcohol volumen, con concentraciones de metanol dentro del margen establecido por la norma que va de 100- 300 mg/dL de alcohol anhidro, es preciso señalar que ya otros autores han observado este comportamiento inesperado (Vera Guzman A. M., et al., 2009). En la Figura 2 es posible observar la cinética de determinación de metanol a lo largo del destilado de un lote de mezcal.

Cumplir con los parámetros establecidos por la norma, no es lo más difícil a lo que los productores se han enfrentado, ni siquiera la falta de apoyo en el seguimiento de sus procesos por parte de personal especializado en el tema (dicho sea de

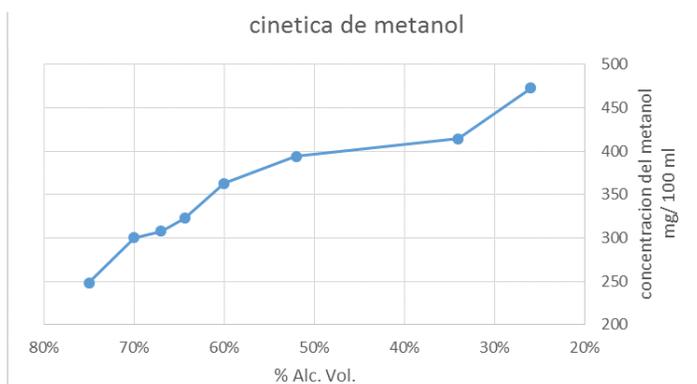


Figura 2. Cinética de cuantificación de metanol en un lote de destilación para la obtención de mezcal en fábrica.

paso, el profesionista calificado en la cadena de producción maguey-mezcal, es escaso e incluso inexistente, debido a que no se han establecido políticas educativas que converjan con esta importante actividad económica que representa una verdadera oportunidad de desarrollo social para el país que posee la mayor biodiversidad de agaves y que se considera la cuna de los mismos), y que al final impacta en sus ventas en cuanto a la apertura de un mercado más justo e incluso el sostenimiento del que ya tienen, que no sea el local. El reto real es darse cuenta que a la hora de hacer un sencillo balance de materia en una ecuación matemática de qué es lo que entra y qué es lo que sale, encontramos que una fábrica de mezcal con prácticas más o menos estandarizadas (por estar certificada, pero con las carencias antes descritas), llega a producir solo un litro de mezcal por cada 20 kg de maguey, esto aparentemente puede no ser impactante, pero si hablamos de toneladas obtendremos más o menos lo siguiente: De una tonelada de maguey

perfectamente elegido y en una adecuada formulación de la tina para la fermentación alcohólica, respecto a los azúcares fermentables, se obtienen tan solo 18 kg de mezcal (el cual puede estar entre los 50-58 % de alcohol volumen), que en peso llega a representar únicamente el 1.8% de la tonelada que ingresó. Desde el inicio se presenta la merma, al momento del horneado el peso de las piñas cae a poco menos de la mitad, después en la destilación ordinaria se pierde la totalidad de la biomasa en forma de bagazo y por último con la segunda destilación se pierde casi la mitad del primer destilado o mezcal simple, ya que las fracciones denominadas puntas y colas, hasta hoy, representan un desperdicio del proceso y que la mayoría de las veces se disponen de manera inapropiada en las fábricas.

Lo anterior es solo por mencionar algo de lo que pasa en las fábricas, falta sumar el desperdicio de biomasa que queda en el campo al momento de labrar los magueyes, las hojas quedan allá en el total desaprovechamiento.

Actualmente, el equipo de trabajo se encuentra estableciendo metodologías que le permitan al productor otorgar valor agregado al propio proceso de elaboración del mezcal a través del aprovechamiento integral de la planta mediante el uso de los residuos que va dejando a su paso el nacimiento del mezcal, evitando la sobre explotación del recurso y previniendo una segura erosión genética de las especies utilizadas, como se ha descrito previamente por Pérez H. E., et al. (2016).

CONCLUSIONES

El mezcal producido en el estado de Guerrero posee gran calidad sensorial (esta aseveración se comprobará solo con la degustación, reza un dicho que dice: “El mejor mezcal es el que me gusta a mí”), su calidad fisicoquímica es mayor en promedio, según los estudios realizados en la zona centro-montaña baja del estado, y sin sobrepasar los problemas que consideramos de lo más común en la producción de esta bebida, los parámetros de metanol y acidez total son los más impactantes en la calidad, pero no todo está perdido, por lo contrario, al habernos percatado de esta situación, sabemos que es posible corregirlos en los cortes del destilado o en los tiempos de fermentación, respectivamente, así como fue resuelto en campo directamente con los productores.

El reto inmediato de la cadena de producción maguey-mezcal, es el aprovechamiento sustentable, la utilización de los residuos generados a lo largo del proceso para la generación de algún valor que permita al productor obtener más ingresos por la misma masa de materia prima procesada, ello impactará positivamente en sus bolsillos como un beneficio económico-social, lo cual se traduce en un impacto ecológico al no generar residuos industriales y lo más importante es que la planta de maguey tendrá un mayor rendimiento económico al que por hoy se obtiene propiciando el ahorro de los recursos naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Consejo Regulador del Mezcal. (2017). Informe estadístico 2017. En: http://www.crm.org.mx/PDF/INF_ACTIVIDADES/INFORME2017.pdf

En: <http://www.mediatecaguerrero.gob.mx/gastronomia/mezcal-guerrerense/>. Fecha de consulta 17 de marzo de 2019.

En: <http://www.mezcaldeguerrero.com/mezguerrero.html>. Fecha de consulta 17 de marzo de 2019.

En: <https://novedadesaca.mx/guerrero-600-productores-mezcal/>. Fecha de consulta 17 de marzo de 2019.

En: <https://www.inforural.com.mx/guerrero-produce-un-millon-700-mil-litros-de-mezcal-al-ano/>. Fecha de consulta 15 de marzo de 2019.

Pérez Hernández Elia, Ma del Carmen Chávez Parga, Juan Carlos González Hernández. (2016). Revisión del agave y el mezcal. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 18(1) 148-164.

Sierra-Martínez P., Flores-Robles D., Bello-Martínez J. y Millan-Vega A. (2019). Analysis of the quality of the mezcal in the central area of the state of Guerrero. *International Symposium on Agave*. Oaxaca, México.

Vera Guzman Areli M., Santiago Garcia Patrica A y López Mercedes G. (2009). Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de Agave angustifolia y Agave potatorum. *Rev. Fitotec. Mex.* 32 (4) 273-279.





MINIREVIEW: USO DE FITORREGULADORES EN EL MANEJO DE CULTIVOS AGRÍCOLAS

¹Job Jonathan Castro Ramos*, ¹María Myrna Solís Oba, ¹Rigoberto Castro Rivera, ²Carlos Ligne Calderón Vázquez.

¹Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Estatal Santa Inés Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México C.P. 90700. ²Departamento de Biotecnología Agrícola, CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, Bulevar Juan de Dios Bátiz Paredes #250, Colonia San Joachin, CP 81101 Guasave, Sinaloa, México.

*jonathan_castro@live.com.mx

RESUMEN

Una herramienta importante en el manejo de cultivos agrícolas es la utilización de fitorreguladores o reguladores del crecimiento vegetal. La aplicación de estos compuestos permite modificar el desarrollo de las plantas logrando desde inducir el aclareo, la floración, cuajado, maduración y el aumento en el tamaño de frutos; hasta omitir el requerimiento de horas frío en árboles frutales, así como limitar el tamaño de las plantas para obtener mayor densidad de siembra y facilitar tareas de cosecha. De esta forma, los fitorreguladores aplicados en la forma adecuada pueden mejorar el rendimiento, productividad, aspectos de calidad y etapas operativas del cultivo. En este artículo de revisión se presentan algunos de los aspectos más importantes de los fitorreguladores como: efectos fisiológicos en las plantas, productos de origen comercial y su aplicación, así como ejemplos de su utilización en algunos cultivos agrícolas.

Palabras clave: fitorreguladores, bioestimulantes, agricultura, producción

Abstract

An important tool in the management of agricultural crops is the use of plant growth regulators. The application of these compounds allows to modify the development of the plants achieving from inducing thinning, flowering, fruit setting, ripening and the increase in the size of fruits, to omitting the requirement of cold hours in fruit trees as well as limiting the size of plants to obtain greater density of sowing and facilitate tasks of harvest. In this way, plant growth regulators applied in the proper way can improve yield, productivity, quality aspects and operational stages of the crop. This review article presents some of the most important aspects of plant growth regulators, such as physiological effects on plants, production, products of commercial origin and their application, as well as some examples of their use in some agricultural crops.

Key words: Plant growth regulators, biostimulants, agriculture, production



I. INTRODUCCIÓN

Los primeros indicios sobre el mecanismo de regulación del crecimiento vegetal fueron reportados en el siglo XIX por Charles Darwin y por Julius von Sachs, al demostrar que algunos de estos procesos eran regulados por sustancias que se transportaban de un sitio a otro en las plantas (Santner, et al. 2009). Posteriormente, estos compuestos se denominaron fitohormonas, y su identificación ocurrió durante el transcurso del siguiente siglo, con el descubrimiento de las auxinas y giberelinas en 1926; así como de las citoquininas y ácido abscísico en 1955 y 1960 respectivamente (Baca y Elmerich, 2003).

Las fitohormonas son compuestos producidos por las plantas activos a muy bajas concentraciones, que regulan sus procesos fisiológicos, por ejemplo, la germinación, crecimiento, floración, formación de frutos, respuesta a tropismos, condiciones de estrés, entre otros (Rademacher, 2015). Existen compuestos análogos a las fitohormonas, llamados fitorreguladores, biorreguladores o reguladores del crecimiento vegetal, estos son compuestos naturales sintetizados por microorganismos del suelo y microorganismos asociados a las plantas. Los fitorreguladores también son producidos por síntesis química, presentando en algunos casos una estructura diferente a los producidos naturalmente, pero con una actividad biológica similar (Lluna-Duval, 2006). Entre estos compuestos se incluyen las sustancias capaces de inhibir la producción de fitohormonas, limitar su translocación a su sitio de acción, así como las moléculas capaces de bloquear los sitios receptores de las fitohormonas (Rademacher, 2015). Estos compuestos alcanzaron gran auge con el inicio de la revolución verde.

También existen productos de origen natural llamados bioestimulantes, los cuales son extractos de composición compleja que contienen nutrientes y pueden contener fitohormonas. Algunos ejemplos son productos de extractos de algas como Biozyme, Cytosome y Cytex (Silva-Garza, et al. 2001; Rademacher, 2015).

Los principales grupos de fitorreguladores (Figura 1) son las auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y etileno; además de otros grupos como los brasinoesteroides, jasmonatos, poliaminas, salicilatos, oligopéptidos y óxido nítrico Asgher et al. (2015), que se han incorporado debido

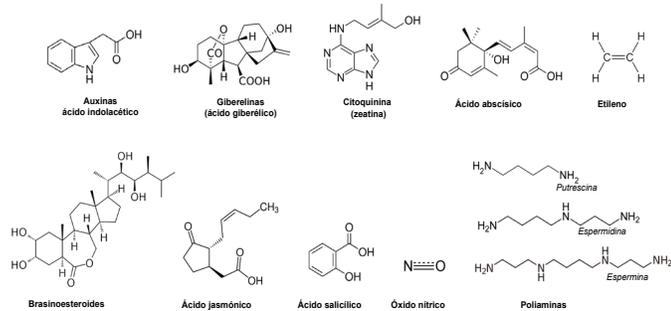


Figura 1. Estructuras de los diferentes grupos de fitorreguladores.

a su actividad biológica (Segura, 2013).

Los fitorreguladores son utilizados en la agricultura para modificar eventos específicos durante el ciclo de vida de las plantas, logrando mejorar aspectos importantes en la producción agrícola, con lo que se puede conseguir aumentar la calidad y rendimiento de los cultivos, así como programar cosechas; también son utilizados para facilitar labores operativas durante el cultivo (Díaz, 2017). Algunos productos comerciales a base de fitorreguladores se presentan en la Tabla I.

Tabla I. Productos comerciales a base de fitorreguladores y su aplicación en cultivos agrícolas.

Nombre comercial	Composición	Efecto en los cultivos	Origen
Amcotone	Ácido naftalenacético y naftalenacetamida	Inductor de cuajado de frutos	Sintético
Amid-Thin	Naftalenacetamida	Aclareo químico de manzana	Sintético
Novagib	Giberelinas	Cuajado y aumento de tamaño de frutos	Natural
Perlan	Giberelinas y 6-benziladenina	Cuajado y aumento de tamaño de frutos	Sintético
Set-Fruit	Ácido giberélico	Cuajado y aumento de tamaño de frutos	Natural
Agromil-V	Citoquininas, giberelinas, auxinas	Bioestimulación orientada a la productividad	Natural
Rooting	Auxinas, citoquininas, vitaminas, fósforo (P ₂ O ₅)	Formación y crecimiento de raíces	Natural
Acigib	Ácido giberélico	Estimulación de la brotación germinación	Natural

I. EFECTO DE LOS FITORREGULADORES EN LAS PLANTAS

La utilización de los diferentes tipos de fitorreguladores se encuentra en función del proceso que se requiera modificar; en términos generales las auxinas, giberelinas y citoquininas regulan la división y la elongación celular. De manera individual las auxinas se encuentran involucradas en la diferenciación celular, en el desarrollo y extensión de raíces, formación de tejidos del floema y xilema así como la respuesta a tropismos (Gutiérrez et al. 2009). Por su parte, las giberelinas participan en la terminación de la dormancia, el control de la senescencia, en la inducción de la germinación y floración, así como en el desarrollo de los frutos. (Li et al. 2015). Los efectos de las citoquininas incluyen la promoción de la división celular, la diferenciación de cloroplastos, el desarrollo de brotes y el antagonismo de la senescencia, además regulan la floración en algunas especies de plantas (Flórez y Pereira, 2008). El ácido abscísico regula la respuesta a condiciones de estrés abiótico, participa en el mantenimiento de la dormancia, apertura estomática, almacenamiento de proteínas y síntesis de lípidos (Dar et al. 2017).

Los fitorreguladores ejercen sus efectos en las plantas de forma individual, aditiva, sinérgica o antagónica, por lo cual, dependiendo del balance de estos compuestos, se generan diferentes respuestas en las plantas (Pan, et al. 2008). Por ejemplo, la germinación esta mediada por el efecto antagónico de giberelinas y ácido abscísico, pues mientras las giberelinas promueven el rompimiento del estado de latencia de las semillas, el ácido abscísico promueve la dormancia (Li et al. 2015; Dar et al. 2017).

En la regeneración in vitro de tejidos vegetales un contenido equimolar de auxinas y citoquininas genera la formación de una masa de células desdiferenciadas (callos vegetales), mientras que el desplazamiento del balance hacia las auxinas o citoquininas promueve el enraizamiento o la formación del tallo respectivamente (Baca y Elmerich, 2003). Durante el crecimiento, la dominancia apical está influenciada por las auxinas, sin embargo, un incremento en la concentración de citoquininas regula este efecto promoviendo el crecimiento del cuerpo vegetativo lateral.

Tomando en cuenta lo anterior, es importante considerar los tipos y proporción de fitorreguladores, si se pretende utilizar estos compuestos para el manejo de cultivos, además de otros factores como la etapa de desarrollo de las plantas.

3. UTILIZACIÓN DE FITORREGULADORES EN LA AGRICULTURA

Los fitorreguladores han sido utilizados para el manejo agrícola de diferentes cultivos, a continuación se exponen algunos ejemplos:

A) En frutales de zona templada, entre los que se encuentran el ciruelo, cerezo, peral y manzana, la dormancia invernal es un factor que limita el cultivo fuera de zonas templadas, debido al requerimiento de horas frío. El uso de fitorreguladores sintéticos como la cianamida de hidrógeno (comercializado como Dórmex) y el tidiazurón (citoquinina) sustituye este requerimiento, permitiendo la brotación de yemas vegetales así como la floración y fructificación (Egea, 2011). Debido a su efecto, estos fitorreguladores también se utilizan para adelantar cosechas. Por su parte, la delimitación de las dimensiones de este tipo de árboles se logra con la aplicación de paclobutrazol, un fitorregulador sintético que inhibe a las giberelinas; así, se consigue obtener árboles del tamaño requerido facilitando las labores de cosecha. En cuanto al aumento de tamaño de frutos, se han utilizado compuestos del grupo de las auxinas principalmente el ácido diclorofenoxiacético (2,4 D), un compuesto sintético inicialmente utilizado como herbicida (Egea, 2011).

B) En el cultivo de tomatero, se ha utilizado el cloromequat para la obtención de plantas de menor altura, lo cual permite aumentar la densidad de siembra y reducir el acame, además, este compuesto favorece la resistencia al trasplante y sequía. La abscisión de flores es uno de los principales problemas en el cultivo de tomatero, para mitigar este problema se utilizan compuestos auxínicos sintéticos los cuales aumentan el prendimiento floral (Ramírez-Rodríguez, 2003). En este sentido, Sarkar et al. (2014) realizaron experimentos en dos variedades de tomate: BARI hybrid tomato-3 y BARI hybrid tomato-4, encontrando que la aplicación de ácido 2,4 diclorofenoxiacético (compuesto auxínico) aceleró la floración y fructificación, además incrementó el número

de racimos de flores y frutos, en la variedad BARI hybrid tomato-4.

Por su parte, para la maduración de frutos de tomate se ha utilizado etefón, este fitorregulador es absorbido por las hojas y los frutos induciendo la producción de etileno, logrando adelantar la cosecha hasta 7 días (Ramírez-Rodríguez, 2003).

C) En el cultivo de uvas Crimson Seedlees, un aspecto importante de calidad y que limita la cosecha es el desarrollo del color rojo característico de esta variedad. En climas cálidos el desarrollo de esta característica se ve afectado a consecuencia de las altas temperaturas. El principal producto utilizado para tratar este problema es el etefón, además del ácido abscísico. La utilización de una concentración de 150 mg/L ya sea de etefón o de ácido abscísico permite adelantar la cosecha 10 días, sin embargo, la utilización de una concentración de 300 mg/L de ácido abscísico permite adelantar la cosecha 30 días. En ninguno de los casos se afecta el rendimiento o la calidad poscosecha de las uvas, no obstante, con la utilización de ácido abscísico se obtienen uvas de mejor apariencia después de haber sido almacenadas en frío, en comparación con las uvas tratadas con etefón (Cantín et al. 2007).

D) En el cultivo de melón, la aplicación de 100 a 200 mg/L de ácido naftalenacético (ANA) en un periodo de 14 días después de la floración aumenta el tamaño de los frutos, un importante aspecto de calidad para el producto de exportación (Montaño y Méndez 2009). El ANA también se ha utilizado satisfactoriamente en el cultivo de manzana, logrando obtener una producción de 16.79 t/ha y frutos de mayor tamaño al utilizar una concentración de 5000 mg/L de ANA, en comparación con lo obtenido en el cultivo sin la aplicación del compuesto (14.81 t/ha). En este sentido, es importante mencionar que las auxinas participan en la división y elongación celular, lo que contribuye en el aumento del tamaño de los frutos. Por su parte, en la producción de mandarina Clementina Esbal, la aplicación de una concentración de 20 ppm de 2,4-D posterior a la floración reduce el número de frutos sin afectar el rendimiento total, lo que se traduce en el aumento del tamaño medio de los frutos, reduciendo el porcentaje de producto no comercializable (Karishma et al. 2019).

E) Para la producción de algodón se han utilizado diversos fitorreguladores de origen sintético logrando controlar el crecimiento de las plantas y mejorar el rendimiento en la producción. Sin embargo, la variación en los cambios ambientales, las condiciones de cultivo y la inadecuada aplicación de los fitorreguladores hace que los resultados sean inconsistentes (Oosterhuis y Robertson, 2000).

CONCLUSIONES

El conocimiento del efecto biológico que ejercen los fitorreguladores en las plantas permite su utilización para la manipulación de los eventos fisiológicos durante su desarrollo, resultando ser de especial utilidad en la producción agrícola.

La adecuada selección y aplicación de los fitorreguladores durante el cultivo de plantas de interés agrícola, representa una importante herramienta para mejorar algunos de los aspectos de mayor interés en su producción, logrando adelantar cosechas, aumentar la densidad de siembra, inducir la maduración de frutos, así como mejorar aspectos importantes de calidad, como son la pigmentación y el incremento en el tamaño de frutos.

REFERENCIAS

Agroenzimas. (sin fecha). Biorreguladores y bioestimulantes. Recuperado de, <http://www.agroenzimas.com.mx/Pac/esp/>

Asgher, M., Khan, M., Anjum, N., Khan, N. (2015). Minimising toxicity of cadmium in plants role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252: 399–413.

Baca, B. E., Elmerich, C. (2003). En: E., Elmerich, Newton, W. E. (eds.), *Microbial production of plant hormones, Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Cantín, C. M., Fidelibus, M. W., Crisosto, C. H. (2007). Application of abscisic acid (ABA) at veraison advanced red color development and maintained postharvest quality of Crimson Seedless grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 237–241.

Dar, N., Amin, I., Wani, W., Wani, S., Shikari, A., Wani, S., Masoodi, K. (2017). Abscisic acid: A key regulator of abiotic stress tolerance in plants. *Plant Gene*, 11: 106–111.

Díaz, M.D. 2017. Biorreguladores de Crecimiento en las Plantas. Serie Nutrición Vegetal Núm. 89. Notas Técnicas de INTAGRI. México.

Egea, J. (2011). Aplicación de fitorreguladores en frutales de zona templada. En: *Los fitorreguladores en la agricultura*.

Flórez, V. J., Pereira- Aleixo, M. F. (2008). Las citoquininas están asociadas al desarrollo floral de plantas de *Solidago x luteus* en días cortos. *Agronomía Colombiana*, 26 (2): 226-236.

Gutierrez, C. K., Matsui, G. Y., Lincoln, D. E., Lovell, C. R. (2009). Production of the Phytohormone Indole-3-Acetic Acid by Estuarine Species of the Genus *Vibrio*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (8): 2253-2258.

Karishma, S., Arya, M. S., Reshma, U. R., Anaswara S. J., Syama S. T. (2019). Impact of Plant Growth Regulators on Fruit Production. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8 (2): 800-814.

Li, G., Liu, S., Sun, Z., Xia, L., Chen, G., You, J. (2015). A simple and sensitive HPLC method based on pre-column fluorescence labelling for multiple classes of plant growth regulator determination in food samples. *Food Chemistry*, 170: 123–130.

Lluna-Duval, R. (2006). Hormonas vegetales: crecimiento y desarrollo de la planta. *Horticultura*, 196: 22-26.

Montaño, N. J., Méndez, J. R. (2009). Efecto del ácido indol-3-acético y el ácido naftalenacético sobre el largo y ancho del fruto de melón (*Cucumis melo* L.) cultivar Edisto 47. *Revista UDO Agrícola*, 9 (3): 530-538.

Oosterhuis, D., Robertson, W. (2000). The use of plant growth regulators and other additives in cotton production. Recuperado el 23 de Enero de 2019 de: https://www.researchgate.net/publication/242152959_The_use_plant_growth_regulators_and_other_additives_in_cotton_production

Pan, X., Welti, R., Wang, X. (2008). Simultaneous quantification of major phytohormones and related compounds in crude plant extracts by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*, 69: 173–178.

Química Massó. (Sin fecha). La gama más amplia de fitorreguladores para la fruticultura moderna. Recuperado de, <http://www.massagro.com/es/>

Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and Uses in Plant Production. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 845–872.

Ramírez-Rodríguez, H. (2003). El uso de hormonas en la producción de cultivos hortícolas para exportación. Recuperado el 13 de diciembre de 2017 de, <http://www.uaaan.mx/postgrado/index.php/simposio2003horticultura.html>

Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I., Estelle, M. (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Natural Chemical Biology*, 5 (5): 301-307.

Sarkar, M. D., Shah-Jahan, M., Kabir, M. H., Kabir, K., Rojoni, R. N. (2014). Flower and Fruit Setting of Summer Tomato Regulated by Plant Hormones. *Applied Science Reports*, 7 (3): 117-120.

Segura, J. (2013). Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal. En J. Azcón-Bieto, M. Talón (Eds.), *Fundamentos de fisiología vegetal* (349-376). Segunda edición. Madrid, España: MacGraw-Hill.

Silva-Garza, M., Gámez-González, H., Zavala-García, F., Cuevas-Hernández, B., Rojas-Garcidueñas, M. (2001). Efecto de cuatro fitorreguladores comerciales en el desarrollo y rendimiento del girasol. *Ciencia UANL*, 4 (1): 69-75.



PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS EN LA INFERTILIDAD MASCULINA CAUSADA POR VPH Y ESTRÉS OXIDATIVO

Elvia Pérez Soto^{1,2}, Sánchez Monroy Virginia², Domingo Vázquez Valeria Izaremy², Oros Pantoja Rigoberto¹

1. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Tollocan, Esquina Jesús Carranza S/N, C.P. 50180, Toluca, Estado De México, México.
2. Laboratorio de Biomedicina Molecular I, Programa Institucional de Biomedicina Molecular, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía- Instituto Politécnico Nacional. Guillermo Massieu Helguera No. 239, Fracc, La Escalera, Col Ticomán, México D.F. C.P.07320.

Teléfono

Correo electrónico: elviser_1085@hotmail.com, rigoberto_ros@hotmail.com

RESUMEN

El Virus del Papiloma Humano (VPH) y el estrés oxidativo son factores de riesgo relacionados en la infertilidad masculina. Existen trabajos respecto a las terapias antioxidantes en pacientes infértiles (con un desequilibrio de marcadores pro y antioxidantes); sin embargo, no existen terapias para combatir ambos agentes causales. Por tanto, esta revisión está enfocada en dar un panorama de ambos factores de riesgo en infertilidad y proponer una terapéutica integral.

El uso de las vacunas como Gardasil tetravalente y nonavalente podrían ayudar al aclaramiento viral, así como el uso de antioxidantes exógenos serían capaces de revertir el daño oxidativo en el microambiente espermático producto del estrés oxidativo debido a la estrecha relación con la respuesta inmunitaria e inflamatoria debida a la infección.

Actualmente, nuestro equipo de trabajo realiza estudios de asociación entre la infección por VPH, la respuesta inflamatoria y la actividad antioxidante en pacientes infértiles mexicanos, lo que llevará a proponer algún abordaje terapéutico integral para restaurar la fertilidad masculina.

Palabras clave: VPH, infertilidad, vacunas, estrés oxidativo, terapia antioxidante.

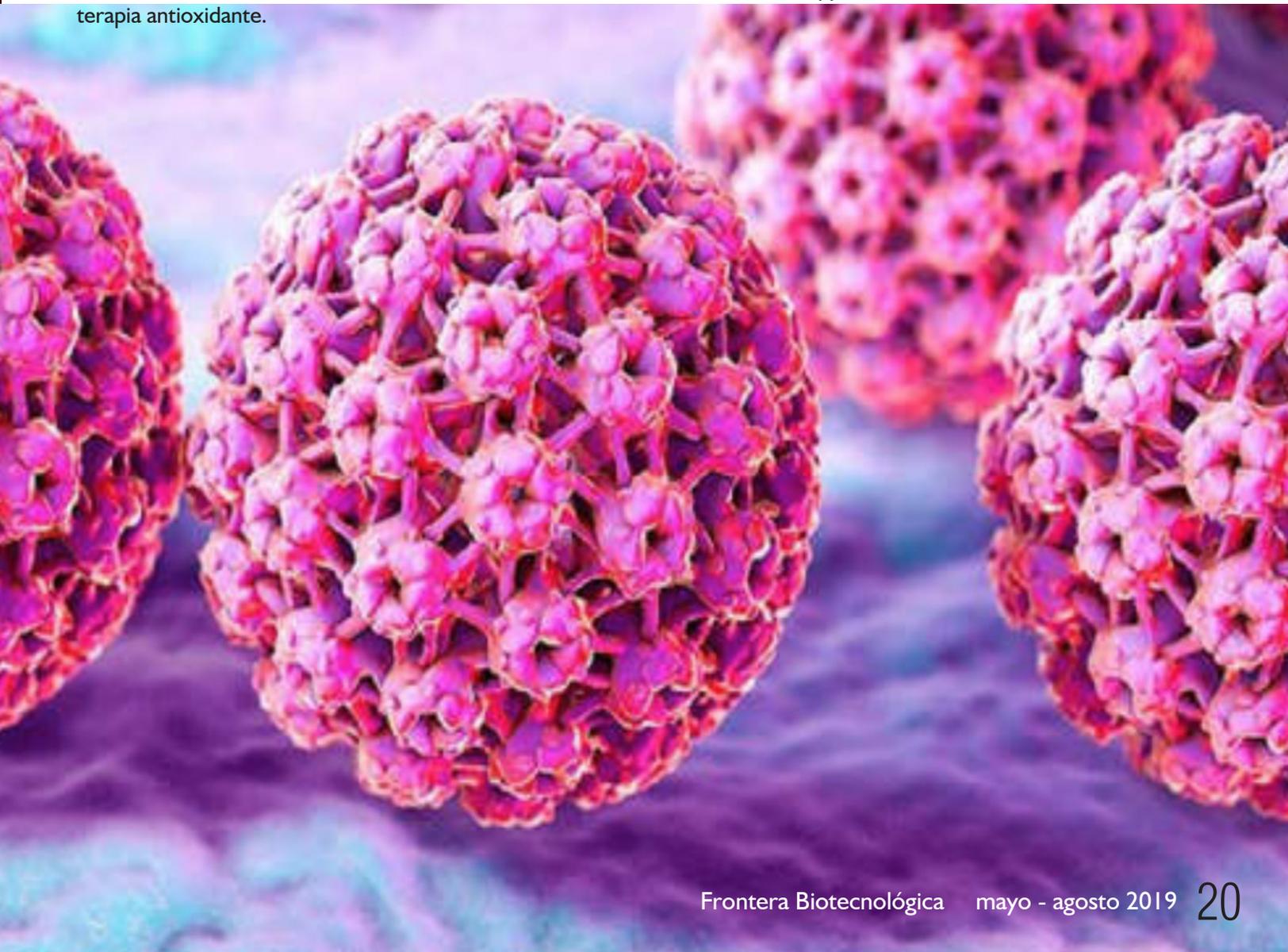
Abstract

Human papillomavirus (HPV) and oxidative stress are related to risk factors in male infertility. There are works regarding antioxidant therapies in infertile patients (with an imbalance of pro and antioxidant markers); however, there are no therapies to combat both causative agents. Therefore, this review is focused on giving an overview of both risk factors in infertility and proposing comprehensive therapy.

The use of vaccines such as Gardasil tetravalent and nonavalent could help viral clearance, as well as the use of exogenous antioxidants would be able to reverse oxidative damage in the sperm microenvironment derived of oxidative stress due to the close relationship with the immune and inflammatory response and infection.

Currently, our work team conducts studies of association between HPV infection, inflammatory response and antioxidant activity in Mexican infertile patients, which will lead to propose a comprehensive therapeutic approach to restore male fertility.

Keywords: HPV, infertility, vaccines, oxidative stress, antioxidant therapy



I. INTRODUCCIÓN

Un fármaco es una sustancia capaz de modificar tanto la estructura como las funciones de un organismo o parte de este, con el fin de aliviar o prevenir enfermedades (Flórez, 1998). El origen de los fármacos puede ser tanto naturales, como sintetizados por el hombre (Cortez-Gallardo, et. al, 2004). La infertilidad masculina se considera un serio problema de salud reproductiva a nivel mundial. Se caracteriza por la incapacidad de establecer un embarazo en pareja después de 12 meses consecutivos de relaciones sexuales sin protección. En México al igual que en otros países, desafortunadamente el diagnóstico es deficiente (Pérez-Soto et al., 2018). A nivel global, la prevalencia de infertilidad se estima en aproximadamente 48.5 millones de parejas (entre 8 % y 12 %) (Wang et al., 2018; OMS, 2010). Schuppe et al. (2017) mencionan que la infertilidad afecta 15 % de las parejas en edad reproductiva que no usan protección, lo que representa al menos la mitad de los casos de infertilidad masculina relacionados con una mala calidad espermática (Schuppe et al., 2017; Sharlip et al., 2002). Desde el punto de vista etiológico, la infertilidad se considera de origen multifactorial, por trastornos genéticos, hormonales, estilo de vida inadecuados, por causas ambientales, infecciones de transmisión sexual (ITS), bacterianas, micóticas o virales, en donde se incluye al Virus del Papiloma Humano (VPH); así como las reacciones inflamatorias resultantes del tracto genital masculino que ocasionan leucocitospermia (Pérez-Soto et al., 2018; Depuydt et al., 2016; Depuydt & Everaert, 2003), sumado a ello, se ha reportado un incremento en la producción de radicales libres; especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERO's y ERN, respectivamente), así como desregulación de sistemas antioxidantes endógenos (Dinesh & Dada, 2012; Garolla et al., 2011). En particular, la infección por VPH se considera un importante factor de riesgo para el desarrollo Hiperplasia Benigna Prostática (HPB), cáncer de Próstata (CaP) (Medel-Flores et al., 2018) y prostatitis (Cai et al., 2014) y alteraciones en la salud reproductiva masculina (Foresta et al., 2011; Souho et. al., 2015). Por tanto, el objeto de este trabajo es dar a conocer aspectos diagnósticos, preventivos y terapéuticos de la infección por VPH. Tomando en cuenta que algunos pacientes presentan cuadros clínicos inflamatorios y desregulación de sistemas antioxidantes endógenos, a causa de infecciones por patógenos, como son el VPH. El uso de antioxidantes exógenos (vitaminas C y E, micronutrientes como Selenio y Zinc, catalasa (Cat), N-Acetil-Cisteína (NAC), licopeno y astaxantina) (Gadallah, 2018), podrían coadyuvar en la terapéutica de infección masculina por VPH, o en su caso, disminuir factores de riesgo para la salud reproductiva.

II. EL VPH COMO FACTOR DE RIESGO EN LA INFERTILIDAD

MASCULINA

Las ITS son causas potencialmente corregibles de la infertilidad masculina, tal es el caso de la infección por VPH que interfiere con la cantidad y calidad espermática (Laprise et al., 2014; Lyu et al., 2017). El VPH pertenece a la familia Papillomaviridae y al género papilomavirus que presenta un genoma de DNA circular de doble cadena, aproximadamente de 8 Kb. Se divide en tres regiones: la región larga de control (del inglés long control región LCR), y la región que corresponde a las proteínas, que son conformados por dos tipos de genes, aquellos que son codificados en las etapas tempranas de la infección, conocidos como genes E (del inglés Early = temprano), por ejemplo las proteínas E6 y E7, que son encargadas de inmortalizar la célula hospedera y del proceso carcinogénico y aquellos que son codificados durante las etapas tardías del ciclo replicativo del mismo, conocidos como L (del inglés Late = tardío) (Silva et al., 2013). Aunque los riesgos de transmisión por la infección VPH parecen ser mayores en mujeres que en hombres, se requieren más estudios al respecto. En general, se ha observado que la infección por VPH en hombres tiene una duración de 6.9 meses, en comparación con las mujeres que es de 9.8 meses, aunque en hombres la infección espermática puede durar hasta 24 meses. Por otro lado, el aclaramiento promedio de la carga viral, se estima que es 6 veces más corto en hombres que en mujeres, es decir, 5.9 meses versus 28 meses. Cuando el VPH se adapta al huésped, este puede completar su ciclo viral y puede persistir de forma asintomática (Depuydt et al. 2016). En estos casos, se estima que existe un equilibrio entre replicación viral y la tolerancia inmunitaria. Sin embargo, cuando la infección alcanza tejidos genitourinarios profundos, el VPH tiene la capacidad de unirse a la cabeza de los espermatozoides, lo que provoca una reducción funcional de la motilidad espermática. Así mismo, también se han encontrado alteraciones en el pH, anormalidades morfológicas, fragmentación del DNA de los espermatozoides expuestos a proteínas oncogénicas (E6/E7), incremento de leucocitos (leucocitospermia) y de citocinas pro-inflamatorias como interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interferón gamma (IFN- γ). En conjunto todos estos cambios morfo-funcionales, provocan reducción en el número de espermatozoides, afectando la calidad espermática y la capacidad reproductiva (Pérez-Soto et al., 2018; Schuppe et al., 2017; Vander & Wyns, 2018; Foresta et al., 2015; Foresta et al., 2010). Respecto a la detección de VPH, Lyu y colaboradores en 2017, reportaron alta prevalencia por VPH en hombres que recibieron atención médica en clínicas de fertilidad (20.4%, 95% CI = 16.2-24.6%), en comparación con la población general (11.4%, 95% CI = 7.8-15.0%) (Lyu et al., 2017).

En un metaanálisis reportaron que la prevalencia de infección fue del 16 % en 7 poblaciones de pacientes infértiles. No obstante, al considerar hombres fértiles, la prevalencia varió de 0 al 100 % (Laprise et al., 2014). Tomando en cuenta que se han identificado aproximadamente 200 diferentes genotipos de VPH, cerca de 40 genotipos se consideran responsables de infecciones anogenitales. Por tanto, su clasificación de los virus de VPH, esta basada en las capacidades de patogenicidad y de virulencia. Por ejemplo, se encuentran genotipos de alto riesgo de malignidad (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82); tres genotipos de probable alto riesgo (26, 53 y 66) y 12 de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108) (Santos et al., 2015). Así mismo, los genotipos detectados con más frecuencia en hombres infértiles en orden decreciente, son 45, 16, 52, 18, 59 y 33 (Xiong et al. 2018). Estudios llevados a cabo por nuestro grupo de trabajo, revelan una elevada relación de infección por genotipos del VPH en una población de hombres infértiles que derivan de un estudio de pareja, siendo una de las más altas detecciones que se registrarán en México (Datos no publicados).

III. ESTRÉS OXIDATIVO COMO CAUSA DE LA INFERTILIDAD

El estrés oxidativo o daño oxidativo es una condición que ocurre cuando la producción de radicales libres supera a los mecanismos de defensa antioxidantes endógenos. En las patologías reproductivas masculinas, las ERO's afectan significativamente la espermatogénesis y la función espermática lo que puede conducir a infertilidad masculina (Dinesh et al., 2012) como se muestra en la figura 1. Las ERO's son radicales libres derivados del oxígeno que incluyen aniones superóxido, radicales hidroxilo, peróxido,

alcoxilo y peróxido de hidrógeno. Por tanto, los niveles excesivos de ERO's pueden ocasionar daño potencial a la membrana plasmática a través de lipoperoxidación (LP), daño estructural del DNA de los espermatozoides, así como una menor capacidad de la reacción acrosómica y de penetración de la zona pelúcida, lo que provoca incapacidad para la fertilización del óvulo (Depuydt et al., 2016; Yu & Huang, 2015; Chen et al. 2012).

En relación a la calidad y funcionalidad espermática, el análisis de genes que regulan los sistemas antioxidantes endógenos en el sistema reproductor masculino, puede ser una herramienta para el diagnóstico y determinación del papel de las ERO's en la espermatogénesis. Estos incluyen al factor nuclear derivado de eritroide 2/Elemento de respuesta antioxidante (del inglés, nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2 y antioxidant response element, ARE), la enzimas catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión S-transferasa (GST), óxido nítrico sintasa (NOS), y la superóxido dismutasa (SOD), las cuales desempeñan funciones importantes en la espermatogénesis, la funcionalidad espermática y la fertilización (Yu y Huang et. al., 2015). Por tanto, alteraciones de estos sistemas enzimáticos, ya sea por polimorfismos génicos o factores externos como la infección por el VPH (Williams, et. al., 2014), podrían tener un efecto sinérgico o potenciador con las ERO's. En particular, se ha visto que las ERO's afectan la función de las células de carcinoma cervical conduciendo al daño al DNA (in vitro). En el caso de la infertilidad, el incremento de las ERO's altera las diferentes etapas de la espermatogénesis lo que contribuye a la aparición de la enfermedad (Yu & Huang, 2015). El factor de transcripción Nrf2, es el gen clave en la defensa antioxidante, ya que este factor puede inducir enzimas antioxidantes a través del elemento ARE. En respuesta al estrés oxidativo, NRF2 se une a ARE, mediando la activación transcripcional de sus genes de respuesta y la modulación de mecanismos de defensa in vivo contra el daño oxidativo (Chen et al., 2012). La proteína I parecida a kelch (KEAP1), es una proteína reguladora citosólica de NRF2 y tiene un sensor rico en sulfhidrilo que responde a oxidantes o electrófilos. En condiciones basales, KEAP1 se asocia con NRF2 y lo dirige a degradación, luego KEAP1 modificado por reactantes oxidativos disociará con NRF-2 que podría translocarse en el núcleo, unirse al gen objetivo del elemento ARE y promover la expresión de enzimas antioxidantes (Yu & Huang, 2015). En esta relación, la vía de señalización NRF2-ARE regula las enzimas SOD y CAT que son importantes en la protección del daño oxidativo por superóxido y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La enzima SOD2, es la isoforma que se expresa altamente en el semen humano y cataliza la dismutación del radical superóxido en oxígeno molecular. Los espermatozoides en el semen son excepcionalmente protegidos por la SOD contra los radicales superóxido, lo cual promueve la sobrevivencia y movilidad de espermatozoides,

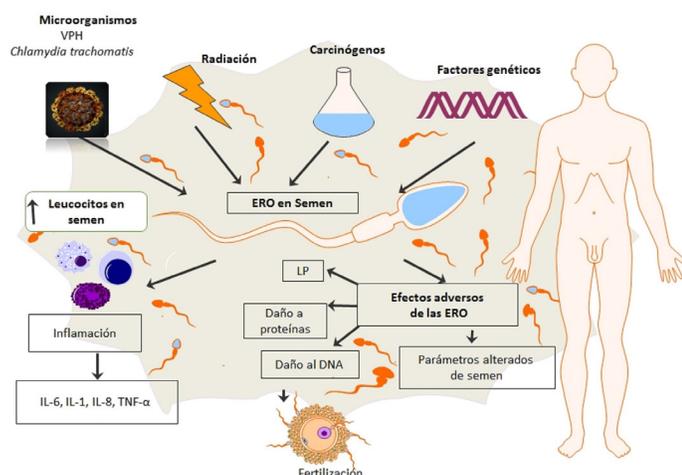


Figura 1. Etiología multifactorial en la infertilidad masculina. Se muestran las causas de la infertilidad masculina como son las infecciones de transmisión sexual (VPH y Chlamydia trachomatis), causas ambientales (radiación), estilo de vida inadecuados (carcinógenos), factores genéticos, así como las reacciones inflamatorias (citoquinas proinflamatorias, como son la IL-6, IL-1 β , IL-8, TNF- α) y las ERO's.

por ello, la SOD es un importante sistema enzimático que participa en la defensa contra de las ERO's en la espermatogénesis, especialmente en la maduración del epidídimo y previene la LP de la membrana plasmática (Chen et al., 2012). Por otro lado, la CAT seminal cataliza la degradación del H₂O₂ a O₂ y H₂O, por lo que estas enzimas están implicadas en el mantenimiento de niveles normales de las ERO's, protegiendo a los espermatozoides de estos radicales tóxicos. Las NOS son una familia de enzimas que catalizan la producción de óxido nítrico (NO) de la L-arginina, y es considerada como un antioxidante que elimina las ERO's a bajas concentraciones. El papel del NO en la motilidad del espermatozoide y su efecto sobre la fertilidad ha sido relacionada con la viabilidad y motilidad espermática, metabolismo y reacción acrosomal. Finalmente, las enzimas GSTs son abundantes proteínas citosólicas que catalizan la conjugación de GSH a sustratos xenobióticos electrófilos, que suelen formar las ERO's *in vivo* (Yu & Huang, 2015).

Varios estudios demuestran que NRF2 es un biomarcador adecuado para la predicción de las ERO's en el plasma seminal y está relacionada con la baja calidad del semen en la infertilidad masculina (Chen et al., 2012; Hagan et al., 2015; Yu & Huang, 2015). Chen y colaboradores en el 2012, evidenciaron la disminución en la expresión de NRF-2 en los pacientes infértiles ($p=0.0008$) y a su vez, se encontró una correlación entre los parámetros de morfofuncionalidad espermática (cantidad, motilidad progresiva, viabilidad espermática, inmovilidad espermática, morfología anormal, actividad de SOD seminal) con los niveles de mRNA de SOD2 (Chen et al., 2012).

Otro estudio clínico indica que, cuando hay una baja expresión del factor de transcripción NRF2, la actividad de SOD también está disminuida (Yu & Huang, 2015). Además, en pacientes con leucocitospermia presentan una disminución de NRF2 y un incremento de citocinas pro-inflamatorias, lo cual compromete la calidad espermática (Hagan et al., 2015). Recientemente, Chyra-Jach y colaboradores en el 2018 estudiaron la asociación entre la infertilidad, sistemas antioxidantes endógenos, citocinas proinflamatorias y quimiocinas, evidenciando que la oligospermia (conteo < a 15 X 10⁶/mL), astenospermia (< del 40 % de movilidad progresiva de espermatozoides), y oligoastenospermia (ambos criterios) están relacionados con el decremento de la actividad de Mn-SOD (SOD2) en los espermatozoides y con el incremento de las quimiocinas en el plasma seminal (IL-8, IL-12, MCP-1 y MIP-1 β) (Chyra-Jach et al., 2018).

Por lo comentado anteriormente, se proponen las siguientes terapias vacunales y antioxidantes para contrarrestar el daño oxidativo causado por la infección por el VPH y que repercute en la mala calidad espermática en pacientes infértiles.

IV. LA VACUNACIÓN COMO PERSPECTIVA PARA LA PROFILAXIS EN LA

INFERTILIDAD MASCULINA ASOCIADA A LA INFECCIÓN POR VPH.

Para definir las estrategias potenciales de vacunación, es importante conocer la prevalencia de genotipos virales en diferentes regiones biogeográficas y en distintas poblaciones de adolescentes, adultos e incluso en poblaciones fértiles e infértiles, lo que nos ayudará a proponer terapias como la inmunización para prevenir la infección en futuras poblaciones (Depuydt et al., 2016; Silva et al., 2013). Por ejemplo, en México se detectaron genotipos de bajo riesgo (BR) y alto riesgo (AR) en una población fértil e infértil, encontrando la prevalencia del 27.27 % en hombres infértiles. Los genotipos detectados con mayor frecuencia fueron el 11 (3/12), seguido del 18 (2/12), 6, 43, 45, 51, 52, 54 y 70 (1/12) (Cortés et al., 2017). En tal caso, la inmunización masculina con Gardasil tetravalente (genotipos de BR: 6 y 11 y AR: 16, 18) y Gardasil 9 nonavalente (BR: 6 y 11; AR 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58) (aprobadas por la FDA) podrían ser una estrategia viable para la prevención del deterioro espermático, sobre todo en los donantes de espermatozoides que acuden a las clínicas de fertilización *in vitro* y pacientes infértiles, ya que esto podría favorecer el aclaramiento de la infección seminal de ciertos genotipos a través del sistema de presentación de antígenos y la subsecuente producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B, como lo reporta otro autor (Foresta et al., 2015).

La estrategia parece razonable, sin embargo se debe considerar la necesidad de más estudios *in vitro* y epidemiológicos a gran escala tanto en hombres fértiles como en infértiles en nuestro país, para así proponer la terapia vacunal adecuada.

V. NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO DE INFERTILIDAD MASCULINA PARA CONTROLAR EL DAÑO OXIDATIVO POR VPH

Como antecedentes interesantes, en otras patologías asociadas a la infección por VPH, se sabe que el desbalance entre especies pro-oxidantes y antioxidantes endógenos pueden conllevar a la carcinogénesis, la neoplasia intraepitelial cervical (NIC 1, 2 y 3) hasta el cáncer cervical en mujeres, siendo un blanco terapéutico importante (Georgescu et al., 2018). Además, se sabe que una variante de la proteína E6 del genotipo 16, es capaz de incrementar los niveles de ERO's y disminuir la actividad antioxidante de SOD2 así como GPx, lo que induce al incremento del daño al DNA en células de carcinoma cervical CaSki y SiHa, *in vitro* (Williams et al., 2014).

No obstante, en la infertilidad masculina se desconoce el mecanismo molecular por el cual el VPH causa estrés oxidativo y participa en el desarrollo de la infertilidad

masculina, sólo se sabe que el incremento de radicales libres repercuten en la morfofisiología de los espermatozoides (Yu & Huang, 2015). De manera importante, nuestro grupo de trabajo se encuentra investigando la asociación de la infección por VPH con la respuesta inflamatoria y el desequilibrio del sistema redox en el microambiente espermático de pacientes infértiles, habiendo una correlación entre estos factores de riesgo (datos no publicados). Por tanto, este abordaje diagnóstico nos llevará a proponer esquemas de tratamiento que se usan para combatir el estrés oxidativo y que además podrían ayudar a la eliminación del patógeno e incrementar la respuesta inmunitaria del paciente.

Las propuestas son las siguientes con base a los hallazgos publicados anteriormente:

5.1. Estilo de vida saludable con actividad física y una dieta mediterránea al estilo mexicano, rica en antioxidantes (por ejemplo, un delicioso caldo con pollo o pescado (carne magra), con vegetales verdes (fibra y antioxidantes) y elote (carbohidrato complejo), con una cucharada de aceite de olivo o 1/3 de pieza de aguacate (ácidos grasos monoinsaturados, insaturados, potasio y vitaminas C, E y B6) y de postre 1 taza de uvas (resveratrol)), así podemos concluir que podemos tener una dieta funcional mexicana siguiendo el modelo mediterráneo y a un costo accesible (<https://www.directoalpaladar.com.mx/salud-y-nutricion/dieta-mediterranea-a-la-mexicana>). Es importante recordar, que una correcta elección de alimentos hace la diferencia entre ser saludable y no serlo, además, en el caso particular del paciente infértil (al que se le asocia la mala calidad espermática por VPH y estrés oxidativo), podría ser una alternativa debido a que el proceso infeccioso y la respuesta inmunitaria se consideran una fuente primaria para la producción de radicales libres, entonces el restablecimiento del balance redox podría incrementar la capacidad y la probabilidad de que un hombre fecunde a su pareja, tal como se reporta anteriormente (Hajizadeh Maleki & Tartibian, 2017; Vander & Wyns, 2018).

En cuanto a la importancia de la actividad física en pacientes infértiles iraníes, Hajizadeh y Tartibian (2017) examinaron el beneficio de un entrenamiento aeróbico y de resistencia combinados durante 24 semanas en 1296 pacientes infértiles. Antes del entrenamiento, los pacientes presentaron una respuesta inflamatoria incrementada (IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α) y una elevación de marcadores de daño oxidativo (ERO's, malondihaldehído, 8-isoprostano), al término del estudio clínico, se observó que los marcadores seminales de inflamación y de daño oxidativo redujeron de manera significativa ($p < 0.05$). Así mismo, el sistema antioxidante seminal (SOD, CAT y capacidad antioxidante total) incrementó por efecto de la actividad física; finalmente, se encontró una correlación positiva con los parámetros seminales, la integridad del DNA y la tasa de embarazo ($p < 0.05$), por lo que los pacientes mejoraron su fertilidad masculina (Hajizadeh Maleki & Tartibian, 2017).

5.2. Tratamientos para pacientes con infertilidad asociada a la infección por VPH y estrés oxidativo por efecto en los marcadores de daño oxidativo, calidad espermática, así como el incremento de los sistemas antioxidantes endógenos: ingesta de vitaminas (C y E), micronutrientes (Selenio, Zinc), el tripéptido antioxidante glutatión (GSH), glutatión S-transferasa (GST), catalasa (Cat), N-Acetil-Cisteína (NAC), licopeno y astaxantina que se describen a continuación.

5.2.1. El ácido ascórbico (vitamina C) reduce la concentración de MDA, incrementa el conteo espermático y la proporción de espermatozoides normales, además correlaciona negativamente con el índice de la fragmentación de DNA. En pacientes infértiles se administra de 500 a 1000 mg al día, vía oral durante 1 o 2 meses de tratamiento. Por otro lado, se conoce que el alfa tocoferol (vitamina E), ejerce efectos protectores sobre la membrana celular espermática, ya que previene la LP por la captura del radical libre hidroxilo y superóxido. Además, también incrementa la concentración de plasma seminal y mejora la motilidad espermática. La administración en varias dosis en un rango de 300 y 1200 mg/día por 3 semanas sugieren efectos benéficos sobre la capacidad reproductiva (Son & Gadallah, 2018).

5.2.2. Respecto a otros micronutrientes, el Selenio se considera esencial en el desarrollo normal testicular, la espermatogénesis, la función y motilidad de espermatozoides. En dosis entre 80-300 μg , una vez al día por al menos 3 meses, se ha observado que reduce el estrés oxidativo y mejora parámetros espermáticos. Por otro lado, el Zinc se conoce como un microelemento que tiene la capacidad de normalizar los índices de sensibilidad al óxido y la actividad similar a la CAT en el fluido seminal. La dosis recomendada es de 220 mg una o dos veces al día por 3 o 4 meses, solo o en conjunto con vitamina C con 5 mg por día, similar a lo que se administra a pacientes infértiles con daño oxidativo.

5.2.3. La NAC es un precursor del glutatión y en los estudios se ha observado que mejora la motilidad espermática, el volumen y su viscosidad, además evita el daño al DNA espermático. En los pacientes con ambos factores de riesgo y mala calidad espermática, la dosis recomendada es de 600 mg por vía oral al día durante 3 meses con base a los estudios reportados (Majzoub & Agarwal, 2018; Son & Gadallah, 2018).

5.2.4. En el caso del licopeno, se sabe que mejora la concentración y motilidad espermática, reduce el daño oxidativo a las mitocondrias espermáticas, la LP y la concentración de las ERO's evitando el daño al DNA (Son & Gadallah, 2018), por lo que también podría ser utilizado en pacientes infértiles e infectados por VPH. En humanos se observa un incremento en las tasas de embarazo con dosis de 4 a 8 mg de licopeno al día por 3 a 12 meses, lo que ayudaría en gran medida a los pacientes con el diagnóstico

integral de infección por VPH y daño oxidativo.

5.2.5. Finalmente, la administración de la astaxantina en combinación con vitaminas A y E (AAE), se podría asociar con la calidad espermática, como es la viabilidad, motilidad y morfología de los espermatozoides y por lo tanto la fertilidad. Se recomienda una dosificación parecida a los pacientes infértiles evaluados anteriormente (Son & Gadallah, 2018), es decir, 16 mg de Astacarox® al día durante 3 meses, con vitamina A y E. La duración del tratamiento dependerá de la calidad espermática evaluada en el paciente.

CONCLUSIÓN

Aunque la infección por VPH en el hombre es escasamente estudiada, existen trabajos que la asocian con diversas patologías en el hombre, incluyendo la infertilidad. Tomando en cuenta que en un proceso de infección e inflamación se presenta un desequilibrio entre especies oxidantes y antioxidantes, tanto en modelos in vitro, in vivo y estudios clínicos, se requiere un abordaje terapéutico integral que incluya la profilaxis, como es la inmunización en pacientes fértiles y una terapia antioxidante en pacientes infértiles infectados por VPH y que tengan un desequilibrio pro y antioxidante en el microambiente espermático, lo que incrementará la fertilidad masculina. Las ventajas de estos tratamientos profilácticos y terapéuticos son el costo-beneficio, especialmente en parejas con baja accesibilidad a los servicios de fertilización in vitro o la inyección intracitoplásmica de esperma, e incluso se podría contemplar el diagnóstico y tratamiento en pacientes que han tenido resultados negativos, aún bajo estas terapias de reproducción asistida.

REFERENCIAS

Cai, T., Wagenlehner, F. M. E., Mondaini, N., D'Elia, C., Meacci, F., Migno, S., Bartoletti, R. (2014). Effect of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis co-infection on sperm quality in young heterosexual men with chronic prostatitis-related symptoms. *BJU International*, 113(2), 281–287. <https://doi.org/10.1111/bju.12244>

Chen, K., Mai, Z., Zhou, Y., Gao, X., & Yu, B. (2012). Low NRF2 mRNA Expression in Spermatozoa from Men with Low Sperm Motility, (63), 259–266. <https://doi.org/10.1620/tjem.228.259>. Correspondence

Chyra-Jach, D., Kaletka, Z., Dobrakowski, M., Machoń-Grecka, A., Kasperczyk, S., Birkner, E., & Kasperczyk, A. (2018). The Associations between Infertility and Antioxidants, Proinflammatory Cytokines, and Chemokines. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/8354747>

Cortés-Gutiérrez E. I., Dávila-Rodríguez I., Fernández J. L., de la O-Pérez L. O., Garza-Flores M. E., Eguren-Garza R., Gosálvez, J. (2016). The presence of human papillomavirus in semen does not affect the integrity of sperm DNA,

(October 2016), 1–5. <https://doi.org/10.1111/and.12774>

Depuydt, C. E., Beert, J., Bosmans, E., & Salembier, G. (2016). Human Papillomavirus (HPV) virion induced cancer and subfertility, two sides of the same coin. *Facts, Views & Vision in ObGyn*, 8(4), 211–222. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28210481> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5303699>

Depuydt, C., Mahmoud, A., & Everaert, K. (2003). II . 2 . 3 Infection / Inflammation of the Male Genital Tract as Cause of Abnormal Spermatozoa, 322–327.

Dinesh, V., Mb, S., & Dada, R. (2012). Reproductive System and Sexual Disorders : Current Research Supraphysiological Free Radical Levels and their Pathogenesis in Male Infertility, 1(4), 1–15. <https://doi.org/10.4172/2161-038X.1000114>

Foresta, C., Noventa, M., De Toni, L., Gizzo, S., & Garolla, A. (2015). HPV-DNA sperm infection and infertility: From a systematic literature review to a possible clinical management proposal. *Andrology*, 3(2), 163–173. <https://doi.org/10.1111/andr.284>

Foresta, Carlo, Garolla, A., Zuccarello, D., Pizzol, D., Moretti, A., Barzon, L., & Palù, G. (2010). Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertility and Sterility*, 93(3), 802–806. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.10.050>

Foresta, Carlo, Patassini, C., Bertoldo, A., Menegazzo, M., Francavilla, F., Barzon, L., & Ferlin, A. (2011). Mechanism of Human Papillomavirus Binding to Human Spermatozoa and Fertilizing Ability of Infected Spermatozoa, 6(3), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015036> *PloS One*, 6(3), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015036>

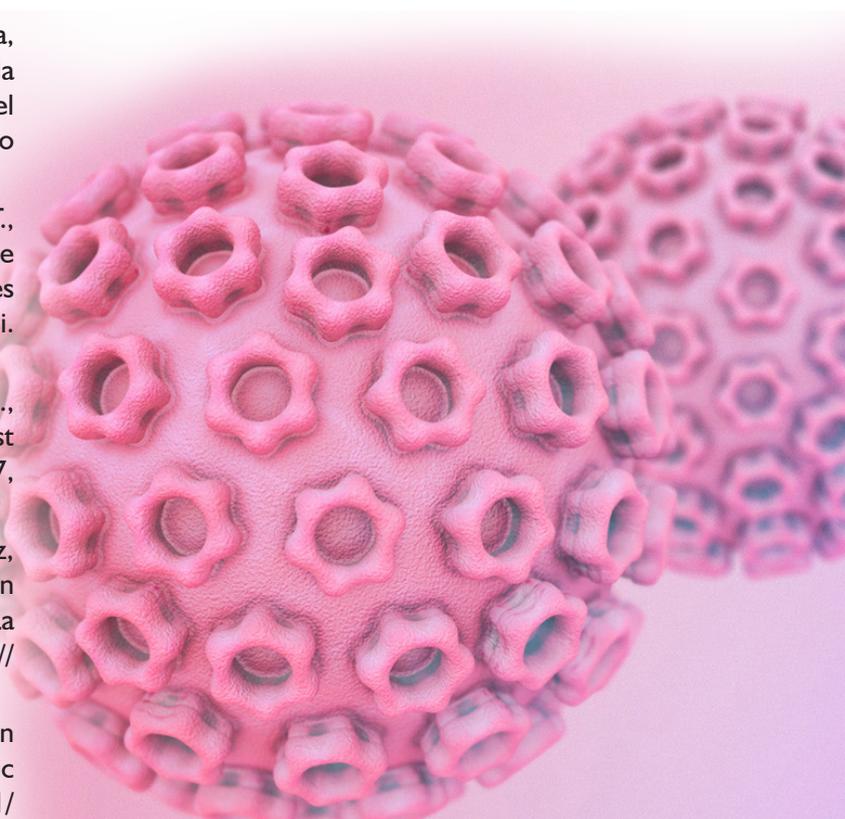
Gadallah, K. (2018). Role of Antioxidants in the Treatment of Male Infertility. *Surgical Medicine Open Access Journal*, 1(2), 1–10.

Garolla, A., Pizzol, D., & Foresta, C. (2011). The role of human papillomavirus on sperm function. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 23(4), 232–237. <https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e328348a3a4>

Georgescu, S. R., Mitran, C. I., Mitran, M. I., Caruntu, C., Sarbu, M. I., Matei, C., ... Tampa, M. (2018). New insights in the pathogenesis of HPV infection and the associated carcinogenic processes: The role of chronic inflammation and oxidative stress. *Journal of Immunology Research*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5315816>

Hagan, S., Khurana, N., Chandra, S., Mondal, D., Hellstrom, W. J. G., & Sikka, S. C. (2015). Differential expression of novel and Nrf-2) of inflammation and oxidative stress in semen of leukocytospermia patients. <https://doi.org/10.1111/andr.12074>

- Hajizadeh Maleki, B., & Tartibian, B. (2017). Combined aerobic and resistance exercise training for improving reproductive function in infertile men: a randomized controlled trial. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 42(12), 1293–1306. <https://doi.org/10.1139/apnm-2017-0249>
- Laprise, C., Trottier, H., & Monnier, P. (2014). Prevalence of human papillomaviruses in semen : a systematic review and meta-analysis, 29(4), 640–651. <https://doi.org/10.1093/humrep/det453>
- Laprise, C., Trottier, H., Monnier, P., Coutlée, F., & Mayrand, M. H. (2014). Prevalence of human papillomaviruses in semen: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction*, 29(4), 640–651. <https://doi.org/10.1093/humrep/det453>
- Lyu, Z., Feng, X., Li, N., Zhao, W., Wei, L., Chen, Y., Dai, M. (2017). Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility : a systematic review and meta-analysis, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2812-z>
- Majzoub, A., & Agarwal, A. (2018). Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility : Benefits on semen parameters , advanced sperm function , assisted reproduction and live-birth rate. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.aju.2017.11.013>
- Medel-Flores, O., Valenzuela-Rodríguez, V. A., Ocadiz-Delgado, R., Castro-Muñoz, L. J., Hernández-Leyva, S., Lara-Hernández, G. et al. (2018). Association between HPV infection and prostate cancer in a Mexican population. *Genetics and Molecular Biology*, 41(4), 781–789. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0331>
- Santos-López, G., Márquez-Domínguez, L., Reyes-Leyva, J., & Vallejo-Ruiz, V. (2015). Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 53 Supl 2:S166–S171.
- Schuppe, H. C., Pilatz, A., Hossain, H., Diemer, T., Wagenlehner, F., & Weidner, W. (2017). Urogenitale Infektionen als Risiko für männliche Infertilität. *Deutsches Arzteblatt International*, 114(19), 339–346. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0339>
- Sharlip, I. D., Jarow, J. P., Belker, A. M., Lipshultz, L. I., Sigman, M., Thomas, A. J., ... Sadosky, R. (2002). Best practice policies for male infertility. *Fertility and Sterility*, 77, 873–882. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)03105-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)03105-9)
- Silva, R., León, D., Brebi, P., Ili, C., Roa, J. C., & Sánchez, R. (2013). [Detection of human papilloma virus infection in men]. *Revista Chilena de Infectología : Órgano Oficial de La Sociedad Chilena de Infectología*, 30(2), 186–192. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000200009>
- Souho, T., Benlemlih, M., & Bennani, B. (2015). Human papillomavirus infection and fertility alteration: A systematic review. *PLoS ONE*, 10(5), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126936>
- Vander, M., & Wyns, C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>
- Wang, S.C., Wang, S.C., Li, C. J., Lin, C.-H., Huang, H.-L., Tsai, L.-M., et al.(2018). The Therapeutic Effects of Traditional Chinese Medicine for Poor Semen Quality in Infertile Males. *Journal of Clinical Medicine*, 7(9), 239. <https://doi.org/10.3390/jcm7090239>
- Williams, V. M., Filippova, M., Filippov, V., Payne, K. J., & Duerksen-hughes, P. (2014). Human Papillomavirus Type 16 E6* Induces Oxidative Stress and DNA Damage, 88(12), 6751–6761. <https://doi.org/10.1128/JVI.03355-13>
- World Health Organization. (2010). Examination and processing of human semen. WHO (Vol. Edition, V). <https://doi.org/10.1038/aja.2008.57>
- Xiong, Y. Q., Chen, Y. X., Cheng, M. J., He, W. Q., & Chen, Q. (2018). The risk of human papillomavirus infection for male fertility abnormality : a meta analysis, (June 2017), 493–497. <https://doi.org/10.4103/aja.aja>
- Yu, B., & Huang, Z. (2015). Variations in Antioxidant Genes and Male Infertility, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/513196>



TAMIZAJE VIRTUAL: UNA METODOLOGÍA COMPUTACIONAL PARA LA BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS.

Ahtziri Socorro Carranza-Aranda. Maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C (CIATEJ).

Correo electrónico: ahtziricarranza19@gmail.com

Aldo Segura-Cabrera. Doctor en Ciencias. The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI). Correo electrónico: asegura@ebi.ac.uk

Albertina Cárdenas-Vargas. Doctora en Ciencias Biomédicas. Posdoctorado, Centro de Investigación, Diseño y Asistencia en Tecnología del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad Biotecnología Médica y Farmacéutica. Correo electrónico: albertinacv19@gmail.com

Sara Elisa Herrera-Rodríguez. Doctora en Ciencias. Investigador Titular A, Centro de Investigación, Diseño y Asistencia en Tecnología del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad Biotecnología Médica y Farmacéutica. Correo electrónico: sherrera@ciatej.mx

RESUMEN

Los fármacos son compuestos que modifican funciones del organismo con el fin de aliviar o prevenir enfermedades. La identificación de nuevos compuestos permite el desarrollo y mejora de los tratamientos actuales. El proceso convencional para la obtención de fármacos llamado "Cribado de alto rendimiento" (HTS), implica un periodo extenso de trabajo (semanas a meses), además, requiere de gran infraestructura. Una alternativa que ha resultado exitosa, es el tamizaje virtual basado en la estructura proteica (SBVS), el cual evalúa y analiza por medio de herramientas computacionales las interacciones moleculares entre un gran número de compuestos y una proteína específica, mediante la técnica denominada "Docking". Existen estudios exitosos realizados por universidades, centros de investigación y farmacéuticas, donde se ha demostrado que herramientas como el HTS en combinación con tecnologías de inteligencia artificial hacen más eficiente el reposicionamiento de fármacos, por lo tanto, la mejora en el desarrollo y obtención de nuevos medicamentos para las terapias actuales.

Palabras clave: HTS, SBVS, Drugs, Docking, Interacciones moleculares.

Abstract

Drugs are compounds that modify functions of the organism in order to alleviate or prevent diseases. The identification of new compounds allows the development and improvement of current treatments. The conventional process for obtaining drugs called "High Performance Screening" (HTS), involves an extended period of work (weeks to months), in addition, requires great infrastructure. An alternative that has been successful, is the virtual screening based on the protein structure (SBVS), which evaluates and analyzes by means of computational tools the molecular interactions between a large number of compounds and a specific protein, by means of the technique called "Docking". There are successful studies carried out by universities, research centers and pharmaceutical companies, where it has been demonstrated that tools such as HTS in combination with artificial intelligence technologies make drug repositioning more efficient, therefore, the improvement in the development and obtaining of new medicines for the current therapies.

Key words: HTS, SBVS, Drugs, Docking, Molecular interactions.



I. INTRODUCCIÓN

Un fármaco es una sustancia capaz de modificar tanto la estructura como las funciones de un organismo o parte de este, con el fin de aliviar o prevenir enfermedades (Flórez, 1998). El origen de los fármacos puede ser tanto naturales, como sintetizados por el hombre (Cortez-Gallardo, et. al, 2004).

Para el sector salud, el descubrimiento o diseño de nuevas sustancias farmacológicas es de suma importancia, ya que, su objetivo principal mejorar la salud de la población, para incrementar su calidad de vida. Por lo tanto, la búsqueda, identificación y diseño racional de fármacos, se enfoca en la implementación de nuevos tratamientos o bien, complementar los existentes, con la finalidad de aumentar su eficiencia y reducir la toxicidad de los mismos. para obtener menores efectos adversos (Secretaria de Salud, 2002). Por lo tanto, para la identificación de compuestos con actividad relevante para ciertas enfermedades, se han desarrollado diversas metodologías con el fin de identificar y evaluar la acción en concreto de los fármacos con características deseables.

2. METODOLOGÍAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS

De manera convencional, el diseño de fármacos se ha realizado desde los años 80s, por medio de proceso denominado "Tamizaje de alto rendimiento" o por sus siglas en ingles HTS (High-Throughput Screening), el cual, con apoyo en bibliotecas de miles de compuestos, se realizan ensayos de laboratorio, para determinar su actividad y eficiencia en sistemas vivos (cultivos celulares y modelo animal). Sin embargo, los HTS se caracterizan por ser procesos extensos que involucran meses de experimentos y análisis de datos. El proceso completo para el desarrollo un medicamento lleva de 10 a 17 años y se dividen en tres etapas (preclínica, clínica y mercado) (Plewczynski, et. al, 2010; Cronk, 2012; Lill, 2013; Nordberg, et. al, 2014) (Figura 1):

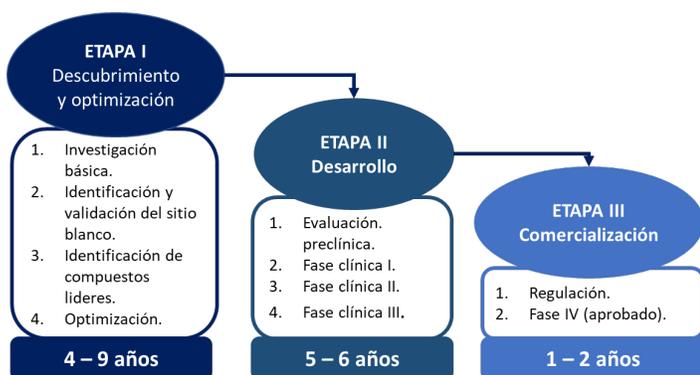


Figura 1. Fases del desarrollo de un medicamento

Cada etapa conlleva un gran trabajo, además, los resultados pueden no ser satisfactorios. Por ejemplo, un candidato a fármaco puede ser exitoso en la mayoría de las fases de investigación preclínica; sin embargo, cuando es evaluado en pacientes resulta no ser efectivo o causa efectos adversos que no fueron observados o previstos en las fases de investigación en laboratorio. Así, después de más de 10 a 17 años de investigación y haber gastado más de 2 billones de dólares, el candidato no llegara al mercado, lo que implica una pérdida económica significativa para las compañías. Por lo que, a partir del uso de la tecnología y la computación ha favorecido la implementación de una metodología para la identificación de compuestos químicos con las características deseadas, con mayor eficiencia, menor tiempo y recursos económicos, denominado "Tamizaje virtual intensivo basado en la estructura proteica (SBVS)" (Medina-Franco et. al, 2015).

3. TAMIZAJE VIRTUAL INTENSIVO BASADO EN LA ESTRUCTURA PROTEICA (SBVS)

El SBVS, consiste en el análisis de forma virtual de las interacciones que pueden existir entre dos moléculas (compuesto químico-proteína o proteína-proteína). El punto de partida para el tamizaje virtual, es el conocimiento previo de la estructura de la proteína y el sitio de interés (sitio blanco), en el cual se llevará a cabo las interacciones con los compuestos químicos. Mediante esta metodología se pueden realizar modificaciones en la estructura molecular y mejorar las interacciones entre los compuestos (ligandos) y el blanco molecular (proteína). Plewczynski, et. Al, 2010; Medina-Franco et. al, 2015; Saldívar-González, et. al, 2016).

El tamizaje virtual, presenta diversas ventajas en relación con los HTS, dado que todo ocurre en un ambiente virtual, no se requiere de una gran infraestructura física para seleccionar los compuestos candidatos. Con lo que se permite establecer un modelo computacional para la identificación y obtención de moléculas con potencial acción biológica (Ashburn y Thor, 2004; Cheng, et. al, 2012; Lill, 2013).

Por lo tanto, las metodologías virtuales, son una herramienta importante en la actualidad, ya que, reduce tanto el tiempo y costos en el desarrollo e identificación de nuevos fármacos con alta posibilidad de ser incorporados en las terapias actuales de diversas enfermedades de gran impacto en la sociedad, como lo son el cáncer de mama (CaMa) y el cáncer de próstata (CaP) (Aguirre-Alvarado, et. al, 2015; Dilly, et. al, 2017) (Tabla 1).

Tabla 1. Ventajas y desventajas del tamizaje virtual basado en la estructura proteica (SBVS).

Ventajas	Desventajas
Costos bajos	Limitado a la cantidad y diversidad de información de las bases de datos.
Una gran cantidad de moléculas analizadas	Uso de equipo de cómputo especializado cuando la cantidad de moléculas es elevada.
Poca infraestructura	
Identificación de un sitio específico de interacción entre proteína - ligando.	

3.1. Docking (acoplamiento molecular).

Para la realización del SBVS, se utiliza la técnica denominada "Docking" o "Acoplamiento molecular", la cual consiste en la evaluación de las interacciones moleculares ligando-proteína, para lograr la identificación de compuestos químicos que hayan presentado interacciones moleculares favorables (potencial afinidad) a una estructura proteica. En dichas interacciones se toma en cuenta la naturaleza de la proteína de interés y de los compuestos químicos a analizar (composición y cargas atómicas), para lograr mimetizar de forma virtual el medio molecular y contar con un acercamiento óptimo para comprender las interacciones de los complejos formados e inferir lo que podría suceder en un sistema vivo (ensayos *in vitro* e *in vivo*) (Padilla y Rojo,

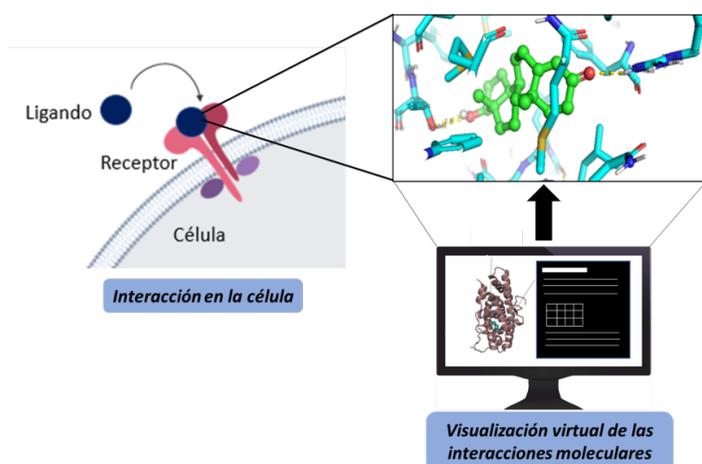


Figura 2. Visualización esquemática del tamizaje virtual

2002; Ashburn y Thor, 2004) (Figura 2).

El docking, es una técnica rápida y eficiente para la selección de las moléculas y la evaluación de los complejos resultantes entre la proteína y los ligandos analizados. Además, es posible analizar desde 1 hasta 100,000 ligandos en un mismo análisis y en poco tiempo (cuestión de días, aproximadamente). Sin embargo, esta técnica es limitada por la cantidad y diversidad de información de compuestos químicos disponibles comercialmente, y la disponibilidad de la estructura proteica de interés (receptor) en las bases de datos. (Ashburn y Thor, 2004; Lill, 2013).

Otra aproximación que se realiza con dicha técnica, involucra la creación de compuestos virtuales; es decir, compuestos que aún no han sido creados en el laboratorio. Así, en

caso de que alguno sea identificado para la enfermedad de interés, se procede a su creación en el laboratorio (síntesis).

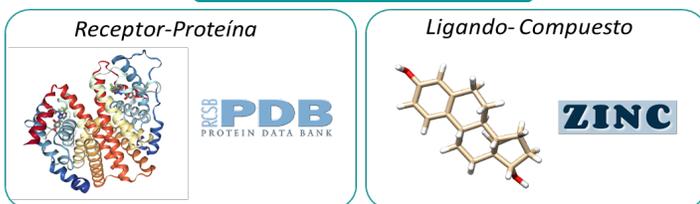
3.2. Pasos del acoplamiento molecular (Docking).

El docking se divide en cuatro etapas (Padilla y Rojo, 2002; Plewczynski, et. al, 2010); la primera etapa consiste en la obtención de las estructuras proteicas a partir de bases de datos existentes, como Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Esta base de datos, alberga una gran cantidad de estructuras tridimensionales (3D) de proteínas, lo cual es un requerimiento indispensable para la realización de simulaciones de docking (Berman et. al 2000). Del mismo modo, es necesario obtener las estructuras tridimensionales de los compuestos químicos que interaccionaran en el receptor, por ejemplo, de la base de datos ZINC 15 (<http://zinc15.docking.org/>), la cual contiene cerca de 230 millones de compuestos comerciales en formato 3D. Además, dicha base de datos es de libre acceso, lo cual favorece en las investigaciones de compuestos de forma virtual (Irwin et. al, 2012). La segunda etapa, se centra en la identificación del sitio específico donde se llevará a cabo el acoplamiento entre el compuesto y la proteína. En la tercera etapa, se lleva a cabo el acoplamiento molecular por medio de programas especializados de docking, los cuales existen tanto de acceso libre como privados, por ejemplo: Surflex (Jain, 2003); LigandFit (Venkatachalam, et. al, 2003), AutoDock (Morris, et. al, 1998) entre otros. Este último, ha sido utilizado en diversos estudios de acoplamiento molecular, principalmente la versión llamada Autodock Vina, por ser de libre acceso y de uso amigable, aunado a que mejora significativamente la precisión promedio de las predicciones de las interacciones entre los compuestos y la proteína de interés (Trott y Olson, 2010). Por último, en la cuarta etapa se realiza el análisis de los resultados (identificación de complejos con interacciones favorables) y la visualización de los complejos formados con alto puntaje (Figura 3).

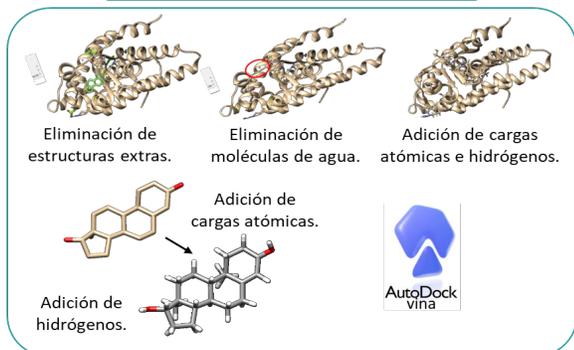
4. REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS

Los métodos computacionales SBVS son muy útiles para diseñar e identificar nuevos fármacos. Aunado a lo anterior, la metodología SBVS también permite identificar nuevos usos de fármacos que son administrados para una patología diferente a la cual fue creado o bien, nuevos usos a fármacos descontinuados. Esto último se conoce como reposicionamiento de fármacos por cribado virtual (Saldívar-González et. al, 2016). Existen diversos estudios de reposicionamiento de fármacos donde se utiliza las metodologías computacionales. Por ejemplo, el estudio realizado por Aguirre-Alvarado y colaboradores (2015), donde se logró identificar a un compuesto llamado Etopósido, como compuesto candidato a fármaco contra el cáncer de mama.

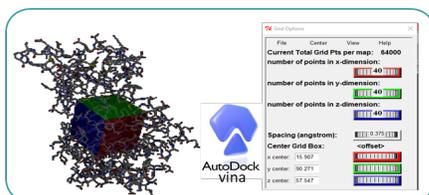
1. Obtención de estructuras



2. Preparación de las estructuras



3. Identificación del sitio de unión



4. Resultados y visualización de las interacciones de los complejos

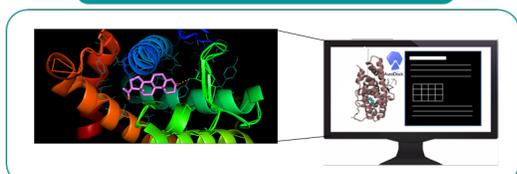


Figura 3. Proceso del tamizaje virtual usando "Docking"

Otro estudio de reposicionamiento virtual fue realizado por Dilly y colaboradores (2017), en el cual lograron identificar la Risperidona como potencial fármaco para el tratamiento contra el cáncer de próstata (CaP), en dicho estudio evaluaron la actividad del compuesto de forma experimental y observaron la disminución el crecimiento de las células de CaP (PC3).

Actualmente, nuestro grupo de trabajo, está enfocado en la búsqueda de compuestos candidatos contra el CaP, por medio de metodologías computacionales para el reposicionamiento de fármacos existentes y discontinuados. Para este tipo de trabajo se ha formado un grupo interdisciplinario, con participación de investigadores nacionales e internacionales, con el fin obtener compuestos químicos candidatos contra CaP y validar experimentalmente su actividad.

Es importante remarcar que los métodos computacionales no reemplazan a los experimentales; por el contrario, son un complemento para el éxito de la obtención de un fármaco candidato y este pueda ser empleado. Además, todas las

predicciones computacionales seleccionadas deben ser corroboradas en laboratorio.

Por lo tanto, el tamizaje virtual enfocado al reposicionamiento, es una estrategia útil para el proceso de identificación de compuestos químicos candidatos, ya que integra el conocimiento biológicos, fisicoquímico e informático de las interacciones moleculares, al procesar de forma eficiente y rápida, grandes cantidades de información, lo que favorece la identificación de compuestos para su validación en el laboratorio, con lo que se minimiza el tiempo de aprobación de los compuestos para su salida al mercado y su uso en diversas enfermedades.

5. INTELIGENCIA ARTIFICIAL

De forma conjunta al SBVS, existe una nueva tendencia en la industria farmacéutica, denominada "Inteligencia artificial". Esta se apoya en metodologías computacionales para la identificación tanto de compuestos químicos candidatos a ser fármacos, como para diseñar compuestos nuevos o, para el diagnóstico de enfermedades. Existen diversos programas basados en inteligencia artificial usados por farmacéuticas. Por ejemplo, el programa computacional ReLeaSE el cual permite crear y evaluar nuevas moléculas desde cero (Popova et. al, 2018).

A pesar del escepticismo del impacto de la inteligencia artificial en la generación de nuevos fármacos, el número de publicaciones y aplicaciones basadas en esta tecnología sigue en aumento. Esta tendencia ha dado lugar a la creación de departamentos dedicados a esta tarea en la industria farmacéutica y de compañías dedicadas exclusivamente al desarrollo de medicamentos basados en inteligencia artificial como por ejemplo BenevolentAI (2013-2018) (<https://benevolent.ai/>) y Exscientia (2012-2019) (www.exscientia.co.uk) en Reino Unido; Atomwise (2019) (www.atomwise.com) en Estados Unidos (Fleming, 2018).

6. CONCLUSIONES

El uso de la estrategia computacional SBVS, es una alternativa a los métodos convencionales de identificación de fármacos (HTS), la cual presenta grandes ventajas, como reducción del tiempo de identificación de compuestos, la eficiencia y costos, permitiendo acelerar el proceso al incrementar la posibilidad de que los fármacos salgan al mercado en menor tiempo. Aunado a lo anterior, el reposicionamiento virtual de fármacos, facilita la implementación de nuevos tratamientos para diversas enfermedades en menor tiempo. De igual forma, el uso de la inteligencia artificial ha permitido la generación de nuevos compuestos candidatos para diversas enfermedades. Por lo tanto, todo lo anterior se traduciría en la obtención racional y eficaz de fármacos, lo que mejoraría los tratamientos actuales, por lo tanto, la calidad de vida de los pacientes, proporcionado fármacos más asequibles a la población.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Dr. Rodolfo Hernández Gutiérrez, a la M.C Flor Yohana Flores Hernández por el apoyo brindado, al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco por brindar las instalaciones para la realización de proyecto y a CONACYT, por la beca nacional otorgada para la realización de mi posgrado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Alvarado, C., Segura-Cabrera, A., Velázquez-Quesada, I., Hernández-Esquivel, M.A., García-Pérez, C.A., Guerrero-Rodríguez, S.L., Ruíz-Moreno, A.J., Rodríguez-Moreno, A., Pérez-Tapia, S.M., and Velasco-Velázquez, M.A. 2016. Virtual screening-driven repositioning of etoposide as CD44 antagonist in breast cancer cells. *Oncotarget*. 7(17):23772-23784.
- Ashburn, T, and Thor, K. 2004. Drugs repositioning identifying and developing new use for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.*; 3:673-683.
- Atomwise. 2019. Artificial Intelligence for Drug Discovery. San Francisco California. Available from <https://www.atomwise.com/> (Fecha de revisión 1 marzo 2019).
- Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.H., Weissing, H., Shindyalov I.N., and Bourne P. E. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 28 (1): 235-242.
- BenevolentAI. 2019. From Data to Medicines. Reino Unido. Available from <https://benevolent.ai/> [Fecha de revisión 1 marzo 2019].
- Cheng, T., Li, Q., Zhou, Z., Wang, Y., and Bryant, S.H. 2012 Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review. *AAPS J.* 14(1): 133-141.
- Cortez-Gallardo, V., Macedo-Ceja, P., Hernández-Arroyo, M., Arteaga-Aureoles, D., Espinosa-Galván, D. and Rodríguez-Landa, J.F. 2004. Farmacognosia: Breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev Biomed.* 15:123-136.
- Cronk, D. 2012. Chapter 8: High-throughput screening. In: *Drug Discovery and Development*. R.G. Hill and H.P. Rang. 2da Edición. Churchill Livingstone. ISBN: 978-0-7020-4299-7.
- Dilly, S.J., Clark, A.J., Marsh, A., Mitchell, D.A., Cain, R., Fishwick, C.W.G, and Taylor P.C. 2017. A chemical genomics approach to drug reprofiling in oncology: antipsychotic drug risperidone as a potential adenocarcinoma treatment. *Cancer Lett.* 393:16-21.
- Exscientia Limited. 2013-2019. Oxford. Exscientia Driven by Knowledge. Available from <https://www.exscientia.co.uk/>. [Fecha de revisión 1 marzo 2019].
- Fleming, N. 2018. Computer- calculated compounds; Researchers are deploying artificial intelligence to discover drugs. *Nature.* 557: 555-567.
- Flórez, J. 1998. Capítulo 1: Farmacología: conceptos y objetivos. In *Farmacología humana*. Edited by J. Flórez, J.A. Armijo and Á. Mediavilla. 3ra edición. Editorial Masson S.A. Barcelona, España. pp. 1-4.
- Friesner, R.A., Bank, J.L., Murphy, R.B., Halgren, T.A., Klicic, J.J., Mainz, D.T., Repasky, M.P., Knoll, E.H., Shelley, M., Perry, J.K., Shaw, D.E., Francis, P. and Shenkin, P.S. 2004. Glide: a new approach for rapid accurate docking and scoring I. Method and assessment of docking accuracy. *J Med Chem.* 47(7):1739-1749.
- Irwin, J.J., Sterling, T., Mysinger, M.M., Bolstad, E.S. and Coleman, R.G. 2012. ZINC: A Free Tool to discover chemistry for biology. *J Chem Inf Model.* 52 (7):1757-1768.
- Jain, A.N. 2003. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking a molecular similarity-based search engine. *J Med Chem.* 46(4):499-511.
- Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., Leach, A.R. and Taylor, R. 1997. Development and validation of a Genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol.* 267(3):727-248.
- Lill, M. 2013. Chapter 1: Virtual Screening in Drug Design. In: *In silico Models for Drug Discovery and Methods in Molecular Biology*. Edited by S. Koratagere. Springer Science+Business Media. ISBN 978-1-62703-342-8.
- March-Vila, E., Pinzi, L., Sturm, N., Tinivella, A., Engkvist, O., Chen, H., and Rastelli, G. 2017. On the integration of in silico drug design methods for drug repurposing. *Front Pharmacol.* 8:298.
- Medina-Franco, J., Fernández-de Gortari, E. and Naveja, J. 2015. Avances en el diseño de fármacos asistidos por computadora. *Educación Química.* 26(3):180-186.
- Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K. and Olson A.J. 1998. Automated docking using a Lamarckian Genetic algorithm and empirical binding free energy function. *J Comput Chem.* 19(14):1639-1662.
- Nordberg, G., Fowler, B. and Nordberg, M. 2014. *Handbook on the toxicology of Metals*. 4ª Edición. Academic Press. Pp 1542. eBook ISBN: 9780123973399
- Padilla, A. and Rojo, A. 2002. Simulación del reconocimiento entre proteínas y moléculas orgánicas o docking aplicación al diseño de fármacos. *Mensaje Bioquímico.* 21: 129-145.
- Plewczynski, D., Laźniewski, M., Augustyniak, R. and Ginalski, K. 2010. Can We Trust Docking results? Evaluation of Seven commonly used programs on PDBbind database. *J. Comput. Chem.* 32(4):742-55.
- Popova, M., Isayev, O. and Tropsha, A. 2018. Deep reinforcement learning for de novo drug design. *Sci. Adv.* 4(7): eaap7885.
- Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T. and Kleve, G. 1996. A fast-flexible docking method using an incremental construction algorithm. *J Mol Biol.* 261(3):470-489.
- Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. and Medina-Franco, J.L. 2016. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química.* 28:51-58.
- Secretaría de Salud. 2002. *Salud: México 2002: Información para la rendición de cuentas*. Segunda edición. ISBN 970-721-148-2.
- Trott, O. and Olson A.J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* 31: 455-461.
- Venkatachalam, C.M., Jiang, X., Oldfield, T. and Waldman, M. 2003. LigandFit: a novel method for the shape-directed rapid docking of ligands to protein active sites. *J Mol Graph Model.* 4:289-307.
- Zsoldos, Z., Reid, D., Simon, A., Sabjad, S.B. and Johnson, A.P. 2007. eHiTs: a new, exhaustive flexible ligand docking system. *J Mol Graph Model.* 26(1):198-2012.

INVESTIGACIÓN +

POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Biotecnología Aplicada
- Doctorado en Biotecnología Productiva



Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal
Tecuexcomac - Tepetitla K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México