



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Méndez, Beatriz S.
Saccharomyces cerevisiae es un buena amiga
Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 88-90
Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633001>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Editorial

***Saccharomyces cerevisiae* es un buena amiga**

Beatriz S. Méndez. Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. IQUIBICEN. CONICET. Buenos Aires, Argentina

Correo electrónico: bea@qb.fcen.uba.ar

Nos dio el pan y el vino y en ese carácter desde los tiempos bíblicos nos acompañó en liturgias religiosas, tabernas abarrotadas y palacios principescos. Hechos conocidos. Sin embargo sus andanzas por los laboratorios científicos no han tenido gran difusión.

S.cerevisiae es el organismo modelo eucariota y como tal existe un profundo conocimiento de su genética y fisiología. Su genoma fue el primero de un organismo eucariota en ser secuenciado (1) y en consecuencia, a posteriori, se dispuso de amplia información sobre transcriptomas, proteomas y datos de ingeniería metabólica en distintas condiciones fisiológicas. Además su uso en las industrias panadera y vitivinícola, en la producción de bio-etanol y en la síntesis de intermediarios para productos de la industria química y farmacéutica condujo a una larga serie de publicaciones relativas a investigación aplicada (2). De ahí derivó su interés en determinar su genoma mínimo.

¿Qué se entiende por genoma mínimo? Se define como el menor conjunto posible de genes que sean suficientes para sostener el funcionamiento de una forma de vida celular en presencia de todos los nutrientes esenciales y en ausencia de estrés ambiental. Y ¿cuál es el interés en conocerlo? Como se deduce de lo dicho anteriormente los microorganismos sintetizan compuestos que tienen interés comercial. En función de lograr su máxima producción es necesario que el organismo en cuestión no se “distriga” en fabricar principalmente compuestos para su diversidad metabólica como lípidos, proteínas, material de reserva, etc. sino que dirija su metabolismo hacia la molécula de interés sin que por supuesto ello implique afectar su sobrevivencia lo que deriva en la necesidad de conocer los genes esenciales.

En procariontes, dado su genoma pequeño, se han determinado los genes no esenciales en varias especies. Básicamente la estrategia fue utilizar métodos de inactivación génica en bacterias como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Mycoplasma*. Sin embargo esos métodos no aseguran que todos los genes inactivados sean simultáneamente no esenciales para crecer en condiciones óptimas. Un enfoque adecuado para obtener esa respuesta es la síntesis de genomas artificiales en los cuales se puedan introducir todas las modificaciones necesarias para definir la mínima información genética que asegure crecimiento adecuado.

El primer genoma procarionte artificial sintetizado, ensamblado y clonado fue el de *Mycoplasma genitalum* (3). Sus 580.076 pares de bases se obtuvieron mediante 101 casetes sintetizados artificialmente, recombinados “in vitro” y clonados en *E. coli* y *S.cerevisiae*. El procedimiento permitió recobrar de clones de *S.cerevisiae* y verificar por secuenciación el

genoma completo artificial de *M.genitalum*. Posteriormente un genoma artificial de *M.mycooides* se transplantó a *M.capicolum* permitiendo la obtención de células bacterianas controladas por un genoma artificial (4)

Las levaduras son distintas. Por empezar *S.cerevisiae* tiene 16 cromosomas y el tamaño total de su genoma es de aproximadamente 12Mb. En el mismo hay cerca de 5000 genes no esenciales (1) y surge la misma pregunta sobre la simultaneidad. Dado que las respuestas a esta pregunta no fueron concluyentes N. Annaluru (5) eligió la estrategia del genoma artificial. Su elección fue el cromosoma III cuyo tamaño es 316.617 pares de bases. La estrategia consistió en introducir “in silico” en el cromosoma modificaciones como , entre otras , la eliminación de DNA no codificante, incorporación de marcas de agua para distinguir las secuencias nativas de las artificiales, y sobre todo limitar los extremos de genes no esenciales con secuencias capaces de producir su eliminación frente a una señal adecuada. Esta última estrategia permite la eliminación ordenada de genes no esenciales para llevar a cabo una función determinada, el principal objetivo tras los genomas mínimos.

Luego Annaluru recurrió a estudiantes de primer año para continuar el trabajo. Tomando como modelo el cromosoma artificial, synIII, de 272.871 pares de bases se sintetizaron artificialmente 70 casetes que fueron unidos por los estudiantes por métodos estándar de biología molecular con el fin de dar complejos ensamblados de longitud aproximada a 3 kb. Utilizando una estrategia novedosa el cromosoma nativo se reemplazó “in vivo” mediante la introducción ordenada de los fragmentos sintéticos en vueltas sucesivas de transformación. SynIII es funcional en *S.cerevisiae*

Y así la legendaria levadura ha permitido la construcción del primer cromosoma sintético eucariota.

¿Podrá aplicarse esta estrategia a todo su genoma? Suponemos que llevará tiempo pero mientras tanto ya se posee información sobre la cual trabajar y además la participación de estudiantes en la tarea (ver un artículo similar en este número de Química Viva) ayudó a su formación y a despertar su interés por la ciencia.

Si, *Saccharomyces cerevisiae* es una buena amiga.

Referencias

1. Goffeau A, et al (1996) Life with 6000 genes *Science* 274: 546, 563-567
2. Nevoigt N (2008) Progress in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* *Microbiology and molecular biology reviews* 72: 379-412
3. Gibson DG, et al (2008) Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalum* genome *Science* 319: 1215-1219
4. Gibson DG, et al (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome *Science* 329: 52-56

5. Annaluru N, et al (2014) Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome *Science* 344: 55-58

La autora es directora de QuímicaViva.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Dieterle, María Eugenia; Piuri, Mariana

Los bacteriófagos como plataforma educativa para atraer y retener a los estudiantes jóvenes en la actividad científica

Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 91-95

Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633002>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Los bacteriófagos como plataforma educativa para atraer y retener a los estudiantes jóvenes en la actividad científica

María Eugenia Dieterle y Mariana Piuri

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IQUIBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: mpiuri@qb.fcen.uba.ar

Resumen

El curso SEA-PHAGES (Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science) de HHMI (Howard Hughes Medical Institute) brinda a los estudiantes universitarios del primer año la oportunidad de acercarse a la investigación empleando como plataforma el aislamiento y posterior secuenciación y anotación de genomas de micobacteriófagos. La participación en este curso ha demostrado estimular el interés de los estudiantes por la ciencia y promover su permanencia en disciplinas como ciencias, ingeniería, tecnología y matemáticas.

Palabras claves: Bacteriófagos, experiencia en investigación, educación e investigación, micobacteriófagos.

Bacteriophages as an educational platform to attract and retain young students in science

Abstract

The HHMI (Howard Hughes Medical Institute) Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science (SEA-PHAGES) course brings the opportunity to first year college students to participate in a research project using as platform the isolation and further sequencing and annotation of mycobacteriophage genomes. Involvement of students in this course stimulates interest in science and enhances persistence in science, engineering, technology and mathematics disciplines.

Key words: Bacteriophage, research experience, education and research, mycobacteriophages

Los (bacterió) fagos fueron descritos por Frederick Twort (1915)(1) y un par de años más tarde por Felix d'Herelle (2) como "comedores de bacterias" característica que dio origen a su nombre. Aunque la naturaleza de los fagos estuvo en debate durante muchos años, esta particularidad condujo a evaluar casi de inmediato su empleo en terapia para el tratamiento de enfermedades bacterianas. Fue el mismo d'Herelle (y algunos de sus familiares) quienes, muy lejos de los estándares éticos requeridos hoy en día, ingirieron suspensiones de fagos para demostrar su inocuidad y emplear preparaciones de fagos activos contra *Shigella* para el control de la disentería. Aunque con el advenimiento de los antibióticos los bacteriófagos fueron dejados de lado en Occidente con fines terapéuticos (en Rusia y Europa del Este nunca dejaron de ser empleados en la clínica), éstos fueron claves en el desarrollo de nuevos paradigmas (i.e., biología molecular como ciencia).

Hoy, casi 100 años después, estos virus de bacterias han vuelto a cobrar relevancia en parte por sus aplicaciones, incluyendo su empleo en terapia (debido a la aparición de cepas resistentes a los antibióticos), desarrollo de herramientas para manipular genéticamente bacterias, empleo de productos codificados en sus genomas con fines tecnológicos y diagnóstico de patógenos.

Sumado a sus múltiples usos, los fagos están siendo empleados como una plataforma para introducir a los estudiantes en el mundo de la investigación e incentivarlos a dedicarse a las ciencias.

Una de nosotras (M.P), en sus primeros días como becaria postdoctoral en el laboratorio del Dr. Hatfull en la Universidad de Pittsburgh, presencié con sorpresa como un chico de no más de 14 años observaba detenidamente placas de lisis sobre un césped bacteriano.

Al preguntar qué estaba haciendo ese chico en el laboratorio, respondieron que era parte del programa PHIRE (Phage Hunters Integrating Research and Education program), en el cual estudiantes universitarios de grado y de escuelas secundarias aislaban nuevos bacteriófagos, secuenciaban, anotaban sus genomas y los analizaban comparándolos con otros genomas conocidos. Con una visión bastante escéptica, dudé del beneficio de la participación de estudiantes tan jóvenes y en etapas tan tempranas en un programa como éste y cuál era el sentido de destinar fondos para llevarlo adelante. Por supuesto, esa visión fue bastante errada ya que el programa que comenzó en la Universidad de Pittsburgh fue extendido a otros ámbitos, más allá de los laboratorios con experiencia en investigación con fagos, y hasta el momento ha sido implementado en más de 73 universidades en los últimos 5 años con la participación de 4800 estudiantes. Esto ha sido estructurado a nivel nacional en Estados Unidos a través del curso SEA-PHAGES (Science Education Alliance Phage Hunters Advancing Genomics and Evolutionary Science) de HHMI (Howard Hughes Medical Institute)(3).

¿En qué consiste exactamente el curso? Brinda a estudiantes de los primeros años de la universidad (College) una experiencia en investigación durante el transcurso de un año. Las

clases son de 18-24 alumnos e incluyen uno o dos profesores y un jefe de trabajos prácticos. En el primer cuatrimestre, los estudiantes aíslan fagos de muestras de suelo (recolectadas por ellos y registrando con un GPS las coordenadas del lugar) usando *Mycobacterium smegmatis* como hospedadora (bacteria no patogénica que se usa como modelo para *Mycobacterium tuberculosis*). Los estudiantes purifican y caracterizan los fagos, los visualizan por microscopía electrónica y extraen y purifican DNA. El genoma es secuenciado entre cuatrimestres y en el segundo cuatrimestre los alumnos anotan el genoma empleando herramientas bioinformáticas para definir posibles genes, entender reordenamientos genómicos y predecir funciones proteicas. La secuencia y la anotación es revisada y recopilada en una base de datos (PhagesDB database, <http://www.phagesdb.org>) y enviada a GenBank. Cada estudiante puede ponerle nombre a su fago (de ahí nombres tan variados como Brujita, Tweety, Corndog, etc.) lo que les da un sentido de posesión y los motiva a explorar los secretos detrás del mismo. El objetivo de este curso curricular es introducirlos en los métodos y abordajes que se emplean en investigación, diseño experimental e interpretación de datos pero no busca brindar información más allá del contexto biológico necesario para llevarlo a cabo.

La contribución del curso SEA-PHAGES ha sido clave para entender la diversidad de los micobacteriófagos (fagos que infectan *Mycobacterium*) y los datos obtenidos han resultado en un número significativo de publicaciones en las cuales los estudiantes son autores (4-12). Se han aislado 3000 nuevos fagos y han sido secuenciados más de 450 genomas con más de 350 secuencias depositadas en Genbank. Se ha estudiado la correlación entre el genoma y el lugar geográfico donde fueron aislados (7-13) y los mecanismos evolutivos que llevan a la presencia de mosaicos en sus genomas (6). Sumado a esto, los fagos aislados forman una invaluable colección de potenciales virus que infecten *Mycobacterium tuberculosis*. Los bacteriófagos de *M.tuberculosis* han sido fundamentales para el desarrollo de herramientas para la manipulación genética de esta bacteria (14), el diagnóstico (15) y la determinación rápida del patrón de susceptibilidad a antibióticos para identificar cepas resistentes(16).

En el año 2012, en Estados Unidos, el presidente del Consejo de Asesores en Ciencia y Tecnología (PCAST) reportó la necesidad de un millón de graduados en ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas en la próxima década para cubrir las necesidades económicas de ese país. Uno de los problemas con los que se enfrentan es la deserción de estudiantes de estas carreras durante los primeros años. El reemplazo de los cursos convencionales de laboratorio por aquellos donde se involucre a los alumnos en experiencias de investigación reales ha demostrado mejorar el compromiso e interés de los estudiantes por la ciencia (17-19). En un trabajo recientemente publicado en la revista *mBio*, se analizó el efecto que tenía la participación en el curso SEA-PHAGES en la permanencia en la carrera (3). Se observó una mayor retención de los alumnos que participaron del curso sugiriendo que la incorporación de la experiencia en investigación en etapas tempranas disminuye la deserción de los estudiantes.

Tal vez la clave de este programa comparado con otros (como por ejemplo estudiantes que durante el verano hacen una pasantía de investigación en un laboratorio) radica en la

participación directa de los alumnos en un descubrimiento científico, con un proyecto propio que puede mejorar su autoestima y su motivación personal. Los costos de los materiales son similares a los de otros trabajos prácticos y los gastos de secuenciación son cubiertos por HHMI y la Universidad de Pittsburgh. Como ventaja adicional, el tamaño y la diversidad de la población de fagos es tan grande que no genera ningún obstáculo en el número de estudiantes que pueden participar.

Aún hoy, los fagos no dejan de sorprendernos y hasta han demostrado ser aliados ideales para introducir a los jóvenes en la investigación despertando su apetito por la ciencia.

Referencias

1. Twort FW (1917) An investigation on the nature of ultra-microscopic. *The Lancet*, 1915 186: 1241-1243.
2. d'Herelle F (1917) Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris* 165: 373-375.
3. Jordan TC, et al (2014) A broadly implementable research course in phage discovery and genomics for first-year undergraduate students *MBio*. 5: e01051-13.
4. Cresawn SG, Bogel M, Day N, Jacobs-Sera D, Hendrix RG, Hatfull GF (2011) Phamerator: a bioinformatic tool for comparative bacteriophage genomics. *BMC Bioinformatics* 12: 395.
5. Magee C, et al (2012) Mycobacteriophage Marvin: a new singleton phage with an unusual genome organization *Journal of Virology* 86 4762-75.
6. Pope WH, et al (2011) Cluster K mycobacteriophages: insights into the evolutionary origins of mycobacteriophage TM4 *PLoS One* 6: e26750.
7. Pope WH, et al (2011) Expanding the diversity of mycobacteriophages: insights into genome architecture and evolution *PLoS One* 6: e16329.
8. Pope WH, et al (2013) Cluster J mycobacteriophages: intron splicing in capsid and tail genes *PLoS One* 8 e69273.
9. Hatfull GF, et al (2010) Comparative genomic analysis of 60 Mycobacteriophage genomes: genome clustering, gene acquisition, and gene size *Journal of Molecular Biology* 397: 119-43.
10. Smith KC, et al (2013) Phage cluster relationships identified through single gene analysis *BMC Genomics* 14: 410.
11. Jacobs-Sera D, et al (2012) On the nature of mycobacteriophage diversity and host preference *Virology*. 434: 187-201.
12. Lorenz L, et al (2013) Genomic characterization of six novel *Bacillus pumilus* bacteriophages *Virology* 444: 374-383.

13. Hatfull GF, Cresawn SG, Hendrix RW(2008)Comparative genomics of the mycobacteriophages: insights into bacteriophage evolutionResearch in Microbiology159: 332-9.
14. Jacobs WR Jr(2000)Mycobacterium tuberculosis: A Once Genetically Intractable Organism in Molecular Genetics of the Mycobacteria, G.F. Hatfull and W.R. Jacobs Jr., Editors, ASM Press, Washington, DC. p. 1-16.
15. Jacobs WR Jr, et al(1993)Rapid assessment of drug susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis by means of luciferase reporter phagesScience259: 819-822.
16. Piuri M, Jacobs WR Jr, Hatfull GF(2009)Fluoromycobacteriophages for rapid, specific, and sensitive antibiotic susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosisPLoS One4: e4870.
17. Seymour E, et al(2004)Establishing the benefits of research experiences for undergraduates in the sciences: First findings from a three-year studyScienceEducation88: 493-534.
18. Eagan MK, et al(2013)Making a Difference in Science Education: The Impact of Undergraduate Research ProgramsAmerican Educational Research Journal50: 683-713.
19. Lopatto D(2007)Undergraduate Research Experiences Support Science Career Decisions and Active Learning.CBE-Life Sciences Education2007. 6: 297-306.

Mariana Piuri es Investigadora de CONICET y fue Postdoctoral Fellow y Postdoctoral Research Associate en el laboratorio del Dr. Hatfull en el Department of Biological Sciences, School of Art and Sciences, University of Pittsburgh.

María Eugenia Dieterle es becaria doctoral de CONICET



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Moreno de Contartese, Silvia; Quesada Allué, Luis A.
Doctor Carlos Eugenio Cardini: Genio y Humildad
Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 96-100
Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Doctor Carlos Eugenio Cardini:

Genio y Humildad

Silvia Moreno de Contartese¹ y Luis A. Quesada Allué^{1,2}

¹CONICET-Fundación Leloir. ²Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.

Correo electrónico: lualque@iib.uba.ar

Carlos Eugenio Cardini estudió en la Universidad de Buenos Aires y se recibió con medalla de oro como farmacéutico en el año 1933. Tan solo dos años después obtuvo el título de doctor en Bioquímica en la misma universidad con diploma de honor.

Realizó una extensa tarea como profesor universitario y director de unidades académicas. Fue un gran organizador. Con una clara vocación docente, desde 1938 se desempeñó como profesor de Química Orgánica y Biológica de la Universidad de Tucumán y pese al tiempo transcurrido, el Dr. Cardini sigue presente en el recuerdo. Fue quien sentó en esa universidad las bases para la enseñanza de la Química Biológica y para el comienzo de la investigación en dicha área. Estableció laboratorios de investigación, dirigió investigaciones, acercó a prestigiosos científicos de la Argentina y del exterior e inició el armado de una biblioteca especializada en el tema.

Pese a su importante tarea académica realizada en la Universidad de Tucumán en 1947 el Dr. Cardini, junto a muchos otros profesores universitarios en el país, fue dejado cesante. Prosiguiendo su rumbo académico y su vocación de investigador se incorporó al grupo de investigación liderado por el Dr. Houssay, quien también había sido declarado cesante en la Universidad de Buenos Aires. Éste había creado el Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), como una institución privada sin fines de lucro, para proseguir los estudios de fisiología que lo harían acreedor del Premio Nobel de Medicina en ese mismo año, 1947. Es allí donde Cardini se integró a uno de los más distinguidos grupos de investigación de la historia la Argentina, junto a otros brillantes profesores e investigadores que habían debido alejarse de universidades nacionales en los años anteriores y que harían historia: los doctores. Luis Federico Leloir, Ranwel Caputto, y Raúl Trucco.

Para ese entonces, el Dr. Houssay concibió la necesidad de jerarquizar la investigación en la relativamente nueva disciplina Bioquímica y –al mismo tiempo- crear condiciones permanentes que pudieran evitar la emigración de científicos. Leloir acababa de regresar de los Estados Unidos y Houssay, que había dirigido su tesis doctoral, lo propuso como director del nuevo grupo que constituiría el Instituto de Investigaciones Bioquímicas. Cardini era cuñado del importante industrial Jaime Campomar y junto con Houssay lo motivaron para crear bajo su patrocinio económico una entidad que sostuviera dicho Instituto: la Fundación Campomar. Cardini, jugó un rol decisivo en la decisión de su cuñado Jaime y ocupó el cargo de sub-director de la misma. Durante largos años el rol de Cardini en la creación del Instituto fue desconocido

por la mayoría de sus compañeros, dada la gran humildad que lo caracterizó siempre. Así, bajo el mecenazgo de Campomar el 7 de noviembre de 1947, a los pocos días del otorgamiento del Premio Nobel de Medicina a Houssay, se inauguró el flamante Instituto. Bajo la dirección del Dr. Leloir, en una modesta casa de la calle Julián Álvarez 1719, del barrio Palermo en Buenos Aires, el grupo inicial de investigadores estuvo formado por los Doctores Luis Federico Leloir, Carlos E. Cardini (subdirector), Ranwell Capputo y Raúl Trucco, junto al primer becario de la nueva Institución, el Bioquímico Alejandro Paladini. Una vez instalado el Instituto, se adquirió equipamiento y se pagaron algunos sueldos. Como señalara proféticamente el Dr. Leloir “el Instituto de Investigaciones Bioquímicas comienza sus actividades en un local pequeño y provisorio, pero esperamos que sean grandes su labor y su futuro”.

Entre los años 1948 y 1949 utilizando primero como modelo la levadura de cerveza y luego cultivos de *Escherichia coli* reportaron la existencia de una coenzima necesaria para la transformación de la glucosa-1-fosfato en glucosa-6-fosfato. Luego, llegaron a la conclusión que se trataba de α -glucosa-1,6-difosfato. Los ejemplos mejor conocidos de su importancia biológica son los de la fosfoglucomutasa del músculo y de la levadura (1,2) No menor fue el descubrimiento de estos cinco investigadores de la transformación enzimática de galactosa en derivados de glucosa (3) Finalmente en noviembre de 1949 reportan la formación del “factor termoestable como uridina difosfato glucosa (UDPG)” (4). En los años siguientes Paladini, Caputto, Leloir y Cardini descubrieron que el UDPG era necesario para la transformación de galactosa-1-fosfato en glucosa-1-fosfato (5). Este fue un descubrimiento trascendental para la bioquímica que, junto a los demás descubrimientos del grupo, le valió al Dr. Leloir el Premio Nobel de Química 1970. Los datos acumulados hasta el día de hoy indican que toda la sorprendente variedad de polisacáridos que existen en la naturaleza se sintetizan a partir de nucleótido azúcares. En años posteriores, el Dr Cardini comenzó a sentar las bases del conocimiento de la síntesis de oligosacáridos y polisacáridos en plantas, focalizándose en las enzimas involucradas; tarea pionera no solo en la Argentina sino a nivel mundial (6, 7,8)

En 1958 se produjo un gran cambio de situación en la ciencia y las universidades argentinas. Por la sinergia de personalidades muy fuertes como fueron el Dr. Houssay y el Dr. Rolando García, en ese año se creó el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y tanto los miembros del IBYME como los miembros de la Fundación Campomar se trasladaron a un nuevo edificio en el barrio de Belgrano. Esto permitió el crecimiento de ambas instituciones y favorecer la afluencia de alumnos universitarios. En 1960 el CONICET instituye los primeros premios a la investigación científica: con motivo del Premio Weizmann, su presidente el Dr. Bernardo Houssay menciona en su entrega: “el premio se adjudica al Dr. Carlos Eugenio Cardini, por los importantes descubrimientos originales que ha realizado en el campo de la bioquímica. Entre sus trabajos más sobresalientes figuran el descubrimiento de la coenzima de la fosfoglucomutasa, la transformación enzimática de la galactosa en glucosa, el aislamiento de la uridina difosfato glucosa, la biosíntesis de la glucosamina, la biosíntesis de la sacarosa, la biosíntesis del glucógeno, la biosíntesis de los glúcidos y la biosíntesis del almidón. Estos brillantes estudios originales lo colocaron en un alto

rango entre los bioquímicos del país. Además de su labor original propia, supervisó y dirigió a muchos jóvenes graduados”.

También en esos años comienzan a reintegrarse a la Universidad de Buenos Aires los profesores expulsados en décadas anteriores. García, como decano, crea el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, nombrando como profesor y director a Leloir e incorporando a todo su grupo. Después se produjo el otorgamiento de cargos de profesor-investigador a varios de los investigadores, incluyendo Cardini, quien en la práctica se ocuparía de organizar toda la docencia y durante años bregaría por la expansión de la misma en el área de la Química Biológica. Cardini jugó un papel central en la organización del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Como Profesor, Cardini dictó clases magistrales en el viejo edificio de la Facultad en la calle Perú y posteriormente en el pabellón II de la ciudad universitaria. Quienes asistimos a sus clases recordamos su didáctica ordenada y la claridad de sus ponencias, usando siempre una voz pausada pero firme. En 1966 se designa al Dr. Cardini profesor titular plenario con dedicación exclusiva, en el Departamento de Química Biológica de dicha facultad donde en 1969 fue designado director. En unos pocos años creó el Centro de Investigaciones Microbiológicas y organizó más de una decena de cátedras nuevas convirtiendo a ese departamento docente en uno de los más dinámicos de la Facultad. Su metodología para desarrollar la docencia universitaria asociada a la investigación científica, según él lo mencionara era: “aplicar o inventar métodos de participación activa de los alumnos a fin de desarrollar su capacidad crítica, su espíritu de originalidad, su capacidad de plantearse problemas y resolverlos y de acceder a la literatura científica original”. Además de su desempeño como director y docente Cardini mantuvo en todo momento su activa participación en la actividad de su grupo de investigación, originalmente formado por Rosalía Frydman, Nelly Lavintman Juana Tandecarz y becarios doctorales, entre ellos quien escribe aquí, Silvia Moreno.

El Dr. Cardini destacó, sin lugar a dudas, como un científico brillante, tenaz y estudioso y como pionero en la bioquímica de plantas. Pero existen otros aspectos de su biografía que merecen ser realizados y que podemos evocar quienes lo conocimos de cerca, tanto en la Fundación Campomar como en la Facultad de Ciencias Exactas de la UBA. Uno de nosotros (SM) tuvo el gran privilegio de haber integrado su grupo junto con la Dra. Tandecarz. Luego de aprobar el curso de posgrado Química Biológica Superior en 1980 el Dr. Cardini le ofreció la posibilidad de realizar el Doctorado en su laboratorio. SM recuerda especialmente la paciencia que tenía el Dr. Cardini para evaluar los últimos experimentos logrados en el laboratorio y luego con muy pocas palabras aportaba ideas con una visión extraordinaria. Era un lector apasionado que dominaba una vasta gama de áreas de investigación. Menciona que no solo admira la inteligencia y mente visionaria del Dr. Cardini, sino su gran bonhomía para escuchar en silencio a todo investigador, profesor o estudiante que se acercara a su mesada de trabajo y luego con una gran agudeza aportar siempre su respuesta oportuna. En general, al final del relato, bajaba

un poco su cabeza clavando su mirada aguda por sobre sus anteojos y daba su opinión sin rodeos sobre el tema sobre que se lo consultaba.

Otro de nosotros (LQ) tuvo la oportunidad de conocer a Cardini a varios niveles, como alumno de grado y luego como doctorando en la Fundación y en el Departamento de Química Biológica y, más tarde, como colega jefe de grupo. Recuerda, como alumno, las clases de Cardini, que denotaban su personalidad; tranquilas y didácticas, con excelente predisposición hacia los alumnos. Siempre mostraba paciencia y genuina dedicación e interés cuando lidiaba con los habituales problemas de las materias y del departamento. Quien suscribe, LQ, recuerda cuando conoció a Cardini por primera vez, en una situación especial que lo retrata: Era el año 1969, corrían tiempos difíciles para la Facultad en general y para los alumnos en particular. Los derechos de los estudiantes estaban extremadamente limitados. En la materia que daba Cardini, Química Biológica I, se produjo un hecho de injusticia bastante inusual: un cambio que provocaba que tres alumnos, antes aprobados, quedaran afuera de la misma. Los alumnos estábamos indignados, pero por la coerción vigente en la Facultad no había consenso sobre qué hacer ya que las protestas y peticiones estaban prohibidas. Se le solicitó a Cardini, como profesor y como director departamental, que recibiera a dos estudiantes. Concurrimos un delegado y una de las alumnas afectadas. Ni que decir tiene que en la entrevista, Cardini escuchó atentamente y aceptó que se había cometido una injusticia. Algo completamente inusual para esos tiempos y altamente democrático en cualquier época. No sólo no se produjeron las “represalias” que algunos auguraban, sino que los alumnos perjudicados fueron repuestos en su condición de regulares. Conocimos así la ecuanimidad y la vocación democrática de Cardini, en una situación de la universidad donde las injusticias inapelables eran frecuentes.

Ejerciendo sus tareas como director departamental en la Facultad y como pieza fundamental en la Fundación Campomar, Cardini siempre mostró una gran ecuanimidad y prudencia, privilegiando permanentemente los intereses de ambas instituciones. Siempre logró balancear sus puntos de vista con los de sus pares y cuando le tocó tomar decisiones, en tiempos que por períodos fueron muy difíciles para los ambientes académicos, supo encontrar soluciones posibles. Conocido por pocos, Cardini tenía una personalidad con aspectos muy mundanos: amaba el fútbol, coleccionaba estampillas argentinas y en ocasiones, sorpresivamente, desplegaba un humor sobrio y muy particular.

Los últimos años de su vida, los pasó en gran medida actualizándose en la biblioteca de la fundación, que hoy lleva su nombre. Leía con mucha curiosidad, en particular aspectos relacionados con el funcionamiento de las plantas, tema que lo apasionaba. Como ejemplo de su mente visionaria podemos señalar que a comienzos de los 90 detectó como él lo llamaba la “alelopatía de las plantas”, un tema de punta hoy en día en el primer mundo.

Para quienes lo conocimos, Cardini fue una personalidad querible y memorable.

Referencias

1. Leloir LF, Trucco RE, Cardini CE, Paladini AC, Caputto R (1948). The coenzyme of phosphogluco mutase. Archives of Biochemistry 19: 339-340.
2. Paladini AC, Caputto R, Leloir LF, Trucco RE, Cardini CE (1949). The enzymatic synthesis of glucose-1,6 diphosphate. Archives of Biochemistry 23: 55-66.
3. Caputto R, Leloir LF, Trucco RE, Cardini CE, Paladini AC (1949). The enzymatic transformation of galactose into glucose derivatives. Journal of Biological Chemistry 179: 497-499.
4. Leloir LF, Trucco RE, Cardini CE, Paladini AC, Caputto R (1949). The formation of glucose diphosphate by Escherichia coli. Archives of Biochemistry 24: 65-74.
5. Cardini CE, Paladini AC, Caputto R, Leloir LF (1950). Uridine Diphosphate Glucose: the Coenzyme of the Galactose-Glucose Phosphate Isomerization. Nature 165: 191-192.
6. Leloir LF, Rongine de Fekete LA, Cardini CE (1961). Starch and oligosaccharide synthesis from uridine diphosphate glucose. Journal of Biological Chemistry 235: 636-640.
7. Frydman RB, Cardini CE (1964). Biosynthesis of phytoglycogen from adenosine diphosphate D-glucose in sweet corn. Biochemical and Biophysical Research Communications. 14: 353-357
8. Frydman RB, Cardini CE (1967). Studies on the biosynthesis of starch. II Some properties of the adenosine diphosphate glucose: starch glucosyltransferase bound to the starch granule. Journal of Biological Chemistry 242: 312-317.

L.A. Quesada Allué es Investigador de CONICET y Profesor Consulto de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. S. Moreno de Contartese es Investigadora de CONICET



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Vittori, Daniela; Nesse, Alcira

Actualización de la interacción metal-organismo humano en la era del aluminio

Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 101-108

Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633004>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Actualización de la interacción metal-organismo humano en la era del aluminio

Daniela Vittori, Alcira Nesse.

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires-IQUIBICEN, CONICET, Argentina

Correos electrónicos: dvittori@qb.fcen.uba.ar; anesse@qb.fcen.uba.ar

Resumen

Debido al incremento del uso de aluminio (Al) surge la necesidad de intensificar estudios que permitan revelar nuevos aspectos de la interacción de este metal con los seres vivos. En esta breve actualización se presentan nuevos hallazgos relacionados con la toxicidad del metal en el período que algunos autores han denominado la "Era del Aluminio". Se acepta que la exposición humana al Al es un hecho involuntario y fortuito por lo que resulta, entonces, importante el reconocimiento de las formas que puede adoptar tal exposición. El amplio uso del Al en alimentos, soluciones nutritivas, cosméticos, medicamentos y envases, así como las exposiciones accidentales al metal proveniente de otras fuentes, aumentan considerablemente el riesgo de la acumulación de Al en el organismo de los seres vivos. Todavía no se han encontrado buenos marcadores que permitan cuantificar la magnitud de exposición a este metal y tampoco, los sitios de acumulación en el organismo. Si bien la presencia del metal es considerada potencialmente tóxica falta identificar los blancos biológicos específicos para comprender cómo la exposición a Al se manifiesta en enfermedad.

Palabras clave: aluminio, organismo humano, toxicidad, exposición al metal

Update on the interaction between aluminum and the human body in the 'aluminum age'.

Abstract

Escalated environmental contamination and extensive use of aluminum (Al) have made the exposure to the metal inevitable, which has led to coining the term the 'age of aluminum' to refer to contemporary life. The widespread use of Al in food, nutritive solutions, cosmetics and in the pharmaceutical and packaging industries, in addition to accidental exposures to the metal, enhance the risk of Al accumulation in human beings. Since no essential role has been demonstrated for this metal in biological systems, its unintended presence in the body might be considered a potential risk rather than a benefit. The potential interactions between the metal and many biomolecules highlight the importance of understanding the consequences of the Al body burden, which can lead to the alteration of metabolic pathways. Therefore, the role of Al in the pathophysiology of human diseases cannot be overlooked. In this sense, identifying the

specific biological targets of the metal is fundamental to understand how Al exposure is linked to clinical manifestations of toxicity.

Key words: aluminum, human body, metal exposure, toxicity

Introducción

En el final de la actualización anterior sobre aluminio (Al) que publicamos previamente en Química Viva (Nesse y col., 2003) mencionamos que se podía esperar un aumento de la exposición a este compuesto debido al extraordinario incremento del uso de este metal y que, seguramente, surgiría la necesidad de realizar más estudios para revelar nuevos aspectos de la interacción del Al con los seres vivos. Esta perspectiva se está cumpliendo por lo que volvemos para presentar nuevos hallazgos relacionados con la toxicidad del metal en este período que algunos autores han denominado la “Era del Aluminio”.

Existe una amplia investigación sobre la posible acción perjudicial del Al sobre distintos organismos vivos. En particular las plantas afectadas por los suelos contaminados con el metal tienen importancia económica sustancial. No obstante y dada la extensión del tema, sólo nos referiremos, en esta breve actualización, a algunos aspectos de la interacción del Al con el organismo humano.

Al no conocerse una función esencial del Al para el ser humano, su presencia en el organismo es considerada como un riesgo potencial de algún efecto perjudicial.

Fuentes de exposición al aluminio

El aluminio es el elemento que se encuentra en mayor abundancia en suelos, aire y agua, ya que constituye el 8% de la corteza del planeta Tierra. La exposición de la raza humana a Al es generalmente atribuida a esa extensa presencia del metal en el ambiente –incrementada por la movilización natural del Al por lluvias ácidas– así como a la multiplicación de las aplicaciones industriales responsables del incremento espectacular en la “química del aluminio”. La facilidad para separar el metal en escala industrial hizo que el Al de ser un elemento eminentemente decorativo se transformara en el metal más ampliamente utilizado del siglo XXI, uso que todavía puede amplificarse con el desarrollo de la industria de las nanopartículas. Las propiedades físicas y químicas, combinadas con su ubicuidad en la naturaleza son la base de la extensa aplicación del Al en las industrias automotriz, aeronáutica, textil, del papel y de colorantes, entre otras. Sin embargo, y en contraposición al concepto general, las exposiciones ambiental y ocupacional no son las únicas fuentes de contacto.

Se acepta que la exposición humana al Al es un hecho involuntario y fortuito por lo que resulta, entonces, importante el reconocimiento de las formas que puede adoptar tal exposición. El amplio uso del Al en alimentos, soluciones nutritivas, cosméticos, medicamentos y envases, así como las exposiciones accidentales al metal proveniente de otras fuentes,

aumentan considerablemente el riesgo de la acumulación de Al en el organismo de los seres vivos.

La dieta puede proveer cantidades variables de Al. Por ejemplo, los vegetales contienen cantidades medibles del metal debido a la absorción del Al solubilizado en suelos ácidos. La acidificación atmosférica está causando el desplazamiento progresivo del Al desde las montañas a la superficie del agua, exponiendo a las plantas, animales y humanos, tal vez por primera vez, al contacto con especies absorbibles del metal. Por otra parte, sales de Al son frecuentemente empleadas como aditivos de alimentos, tales como quesos, polvo de hornear y preparaciones para tortas instantáneas. Entre otras fuentes relacionadas con la dieta, hay que considerar el contenido de Al en bebidas e infusiones, el aporte a las comidas y bebidas proveniente de las ollas y envases de lata, sin olvidar el contenido de Al en aguas públicas. A pesar de que la mayoría de las aguas naturales contienen mínimas cantidades del metal, el uso de compuestos de Al en el sistema de purificación proporciona cantidades significativas del metal en las aguas corrientes.

Es un hecho conocido que los pacientes renales en hemodiálisis fueron los primeros en mostrar signos de sobrecarga de Al. La toxicidad por el metal era causada por la incorporación a la sangre del Al presente en alta concentración en los líquidos de diálisis más la prescripción de medicamentos orales de compuestos de Al utilizados como ligantes de fosfato. En la actualidad el tratamiento del agua de diálisis provee líquidos de mejor calidad pero, a pesar de ello, se sigue reportando el hallazgo de pacientes en hemodiálisis con elevados niveles de Al en el organismo, reflejado en la concentración de Al en sangre, debido a fallas en la excreción del Al incorporado a través de numerosos medicamentos.

Otras rutas subestimadas de exposición a Al son la piel y las vías olfatoria y pulmonar. El Al es un componente importante de muchas formulaciones cosméticas. La exposición diaria a Al también incluye el uso de cosméticos, bronceadores, bloqueantes solares y antitranspirantes y la frecuencia con que estos productos son aplicados sobre piel y cabello puede significar un aporte sustancial del metal al organismo.

Actualmente, las mayores fuentes de exposición a Al para el individuo común, es decir, aquél no directamente afectado por una relación ocupacional, parece provenir de la dieta y de preparaciones farmacéuticas. Estas fuentes pueden ser "intencionales", cuando el Al es un componente de la formulación o "no intencionales", cuando el Al está presente como contaminante. Entre los primeros, se puede mencionar la incorporación de Al al organismo como adyuvante de vacunas, ya que el contenido del metal liberado al organismo por esta causa supera a la ingesta de una dieta normal. Los pacientes en tratamiento crónico con drogas que actúan en la membrana de los enterocitos, aumentando la permeabilidad a metales, deben recibir particular atención. La adicción a cocaína y heroína constituye otro aporte de Al al organismo, agravado por el uso de la vía olfatoria, una forma de acceso directo al cerebro, con evasión del bloqueo de la barrera hematoencefálica. Los antiácidos a base de Al, ingeridos en gran cantidad por consumidores regulares, y las soluciones de administración

endovenosa contaminadas con Al como las soluciones de albúmina u otras para nutrición parenteral, identifican nuevas poblaciones en riesgo de adquirir sobrecarga de Al. Dentro de estas últimas, la población infantil representa el grupo con mayor potencial exposición al metal si se considera el Al por kilogramo de peso corporal. En este contexto, se han establecido claras relaciones entre la exposición parenteral a Al y la toxicidad en infantes, ya que el metal está presente como contaminante en las fórmulas que reciben los neonatos prematuros, además de que la inmadurez renal de los recién nacidos afecta su eliminación. El interés por determinar el grado de contaminación con Al de distintas fórmulas infantiles resurgió a partir de un reciente reporte que muestra el elevado consumo de fórmulas infantiles, algunas de ellas como única fuente de leche maternizada en el Reino Unido, así como el hallazgo de la contaminación con Al de muchas de las fórmulas analizadas. Algunos estudios mostraron que la fórmulas estudiadas entre las disponibles en el Reino Unido estaban contaminadas con Al. De las investigaciones surge que se necesitan iniciativas de instituciones de salud pública para establecer normas que conduzcan a la reducción del contenido de Al en fórmulas infantiles a los límites más bajos posibles para proteger a los infantes de la exposición crónica al metal.

Aluminio en el organismo

La presencia de Al en el organismo deriva del balance entre la exposición y la excreción. Todavía no se han encontrado buenos marcadores que permitan cuantificar la magnitud de exposición a este metal y tampoco, los sitios de acumulación en el organismo. Además, se resalta la importancia de detectar el Al biológicamente disponible, es decir aquél que es capaz de intervenir en los procesos biológicos del organismo.

Si bien la presencia de Al es considerada potencialmente tóxica falta identificar los blancos biológicos específicos del metal para poder comprender cómo la exposición a Al se manifiesta en enfermedad.

Asociación de aluminio con signos patofisiológicos

El Al forma complejos estables con diversas moléculas como proteínas y ligandos biológicos de bajo peso molecular.

Es muy vasta la información actual acerca de la presencia de Al en el cuerpo humano y estudios experimentales muestran la asociación con desórdenes que abarcan prácticamente todos los órganos. La implicancia del Al en distintas patologías ha sido documentada, en especial, en lo que refiere a la salud humana y animal. Desórdenes neurológicos, hepáticos, intestinales, óseos, hematológicos, metabólicos, del sistema inmune y hasta procesos tumorales podrían ser explicados por la irrupción del Al en distintos eventos. Han sido descritas interacciones del Al con varios factores (calcio, hierro, magnesio, zinc, fosfolípidos, óxido nítrico, proteínas) o componentes celulares (membrana plasmática, mitocondrias,

núcleo), así como la participación o interferencia del metal en diferentes procesos (estrés oxidativo, inflamación, transporte iónico, síntesis de ATP).

Aluminio y calcio

La presencia de Al perturba la homeostasis del calcio interfiriendo en caminos de señalización celular, observado en distintas especies animales y en sistemas experimentales de variada complejidad.

Se encontró que la exposición a Al altera el flujo del ion Ca^{2+} e interfiere con los mecanismos de su secuestro en compartimientos celulares. Esto conduce a una desregulación de los niveles intracelulares de calcio, lo que, a su vez, induce otros eventos de daño celular, como alteración del funcionamiento de canales iónicos y de caminos metabólicos, activación de enzimas proteolíticas, producción de radicales libres y deterioro de procesos energéticos.

Aluminio y hierro

Si bien algunos ligandos de bajo peso molecular, tales como citrato y fosfato, se encuentran implicados en la distribución del Al entre la sangre y los tejidos, el transporte por la proteína transferrina (Tf), transportadora de hierro (Fe), convierte al Al en potencial agente interferente del metabolismo del Fe.

Efectivamente, el Al compite con el ion férrico debido a su misma carga y radio iónico similar. En nuestro laboratorio hemos demostrado que el Al interfiere con los mecanismos celulares de captación de Fe y con la síntesis de hemoglobina (Hb). La afinidad similar del receptor celular para Tf cuando ésta transporta Fe o Al podría explicar la acción inhibitoria observada en células capaces de sintetizar Hb, tales como progenitores eritroides de médula ósea o líneas celulares. La disrupción de la homeostasis celular del Fe por la presencia de Al también afecta neuronas de ciertas regiones vulnerables del cerebro.

Aunque no se ha descrito un rol fisiológico para el Al, o quizás debido a ello es que la acumulación intracelular debe considerarse indeseable y hasta potencialmente dañina. Si se tiene en cuenta que la mayoría de las células emplea Fe como cofactor de actividades bioquímicas fundamentales, tales como transporte de oxígeno, metabolismo energético y síntesis de ADN, resulta fácil entender que una interferencia potencial de Al con la homeostasis del Fe puede tener serias consecuencias no sólo relacionadas con el sistema eritropoyético sino más allá del mismo.

Aluminio prooxidante

El Al exhibe una significativa actividad prooxidante, promoviendo eventos de oxidación biológica tanto in vitro como in vivo. Todavía no ha sido totalmente aclarado el mecanismo por

el cual el Al, que no es un metal con actividad redox, induce daño oxidativo. Se ha sugerido que el complejo Al(III)-ROS (especies reactivas de oxígeno) es el mediador de la actividad prooxidante del metal. Un mecanismo alternativo por el cual el Al causaría lipoperoxidación sería a través de la unión a grupos polares de los fosfolípidos de membrana, alterando la funcionalidad de la membrana celular y aumentando, por ello, la susceptibilidad celular al daño causado por las ROS. Otra propuesta sugiere que diferentes formas del complejo Al-superóxido tienen una elevada probabilidad de reducir Fe(III) a Fe(II), apoyando la hipótesis de que el Al(III) promueve la reacción de Fenton. La ocurrencia de este proceso in vivo aumentaría la concentración de importantes biooxidantes, como el radical .OH y ha sido especialmente asociado a patologías neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer. Los resultados de numerosas investigaciones sugieren que la actividad prooxidante del Al es significativa a concentraciones del metal que son frecuentemente encontradas en el organismo humano.

Aluminio y cáncer de mama

Investigaciones recientes han identificado el Al asociado con ciertas estructuras de la mama humana y sugerido una posible relación con el uso de sales de Al en la formulación de antitranspirantes. Según los autores, esta asociación podría explicar la causa no identificada de algunos tumores en los que se sospecha la participación de un componente ambiental.

Las sales utilizadas en estos compuestos incluyen cloruro de aluminio, clorhidrato de aluminio y el complejo clorhidrato de aluminio y zirconio con glicina. Algunos organismos de control aconsejan no aplicar el producto sobre piel lastimada o irritada pero es de práctica corriente la aplicación del antitranspirante luego de la depilación.

Los estudios encaminados a describir él o los mecanismos posibles que podrían sustentar la asociación entre Al y cáncer de mama muestran, por un lado, la habilidad del Al de unirse a receptores de estrógenos, actuando como agonista. Dichos xenoestrógenos inorgánicos, que reciben el nombre de metaloestrógenos, tienen gran significado por la fuerte relación entre exposición a estrógenos y desarrollo de cáncer de mama.

Por otra parte, no se puede ignorar la participación nociva del Al en el microambiente del cáncer de mama. Como ya fuera mencionado en esta revisión, las sales de Al han sido catalogadas como factores prooxidantes capaces de catalizar la clásica reacción de Fenton asociada a los iones ferrosos, lo cual promueve un daño oxidativo a través de la formación de superóxido. Esta capacidad del Al ha sido confirmada por la significativa acumulación de productos de oxidación en el microambiente del tumor, lo cual pudo ser correlacionado estadísticamente con los niveles de Al en el fluido mamario obtenido de pacientes con cáncer.

Es importante destacar que, al presente, la información disponible en este tema es incompleta como para asegurar una relación causa-efecto directa. Por otra parte, dado el carácter multifactorial del cáncer de mama, se necesita más conocimiento para establecer las implicancias de exposiciones crónicas a bajas dosis de Al.

Perspectiva futura

Numerosos grupos en distintos países desarrollan investigaciones para intentar dilucidar la participación del Al en patologías neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer.

Otras propuestas están enfocadas a intentar el diseño de estrategias de prevención y diagnóstico de patologías cardiopulmonares asociadas a inhalación de nanopartículas con aluminio como componente.

Difícil pero no imposible será tratar de adquirir mayor información para establecer la localización de Al en el organismo y su potencial toxicidad sistémica.

Referencias del siglo XXI recomendadas:

Ai-Ashmawy M (2011) Prevalence and public health significance of aluminum residues in milk and some dairy products. *Journal of Food Science* 76: T73-T76.

Berend K, van der Voet G, Boer WH (2001) Acute aluminum encephalopathy in a dialysis center caused by a cement mortar water distribution pipe. *Kidney International* 59:746-753.

Bohrer D Oliveira SM, Garcia SC, Nascimento PC, Carvalho LM (2010) Aluminum loading in preterm neonates revisited. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 51: 237-241.

Bohrer D, Bertagnolli DC, de Oliveira SM, do Nascimento PC, de Carvalho LM, Pomblum SG (2007) Drugs as a hidden source of aluminium for chronic renal patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* 22: 605–611.

Burrell S, Exley C (2010) There is (still) too much aluminium in infant formulas. *BMC Pediatrics* 10: 63.

Crisponi G, Nurchi VM, Bertolasi V, Remelli M, Faa G (2012) Chelating agents for human diseases related to aluminium overload. *Coordination Chemistry Reviews* 256: 89-104.

Darbre PD, Mannello F, Exley C (2013) Aluminium and breast cancer: sources of exposure, tissue measurements and mechanisms of toxicological actions on breast biology. *Journal of Inorganic Biochemistry* 128: 257-261.

de Oliveira SR, Bohrer D, García SC, do Nascimento PC, NoreMBERG S (2010) Aluminum content in intravenous solutions for administration to neonates: role of product preparation and administration methods. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 34:322-328.

Exley C (Ed.) (2001) *Aluminium and Alzheimer's Disease. The Science that Describes the Link.* Elsevier Science BV, Amsterdam, The Netherlands.

Exley C (2013) Human exposure to aluminium. *Environmental Science: Processes and Impacts* 15:1807-1816.

Marouani N, Chahed A, Hédhili A, Hamdaoui MH (2007) Both aluminum and polyphenols in green tea decoction (*Camellia sinensis*) affect iron status and hematological parameters in rats. *European Journal of Nutrition* 46:453-459.

Nayak P (2012) Conjecturable role of aluminum in pathophysiology of stroke. En *Metal Ion in Stroke*, Li Y & Zhang J (eds.), Springer Science+Business Media, NY, USA, Cap. 31, pp. 649-680.

Nesse A, Garbossa G, Pérez G, Vittori D, Pregi N (2003) Aluminio: culpable o inocente? *Química Viva (QV)*; Vol. 2:No.1. Recuperable de <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>

Ruipérez F, Mujika JL, Ugalde JM, Exley C, Lopez X (2012) Pro-oxidant activity of aluminum: promoting the Fenton reaction by reducing Fe(III) to Fe(II). *Journal of Inorganic Biochemistry* 117:118-123.

Vittori D, Vota D, Nesse A (2013) Interactions of aluminum with erythroid cells. Review. En *Book Molecular and Supramolecular Bioinorganic Chemistry*. Vol. 4. Ramalho Mercé AL & Lobo Recio MA (ed.), Nova Science Publishers, Inc., NY, USA, Cap. III, pp. 91-112.

Vota D, Crisp R, Nesse A, Vittori D (2012) Oxidative stress due to aluminum exposure induces eryptosis which is prevented by erythropoietin. *Journal of Cellular Biochemistry* 113:1581-1589.

Yokel R (2012) The pharmacokinetics and toxicology of aluminum in the brain. *Current Inorganic Chemistry* 2:54-63.

A. Nesse es Investigadora de CONICET y Profesora de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. D. Vittori es Investigadora de CONICET. Ante consultas dirigirse a la Dra. Nesse: anese@qb.fcen.uba.ar



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Carrillo, Wilman
Digestibilidad de las proteínas alergénicas
Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 109-122
Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633005>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Digestibilidad de las proteínas alergénicas

Wilman Carrillo

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (FCIAL)

Universidad Técnica de Ambato Ecuador

Av. Los Chasquis y Río Payamino Campus Huachi

correo: wi.carrillo@uta.edu.ec

Resumen

Las proteínas alimentarias además de su valor nutricional se sabe que pueden ejercer actividades biológicas sobre el organismo. Las proteínas pueden ser modificadas por distintos métodos tecnológicos como tratamiento térmico, químico y enzimático, estas modificaciones en su estructura pueden modificar sus propiedades biológicas y alergenicidad. Dentro de los métodos más usados para modificar proteínas se encuentra la hidrólisis enzimática. Muchas proteínas por la complejidad de su estructura resultan ser alergénicas, dependiendo del grado de hidrólisis pueden reducir o no su potencial alergénico. Por esta razón resulta de mucho interés saber que le sucede a las proteínas alérgicas durante la digestión gastrointestinal ya sea en su forma nativa o desnaturalizada.

Palabras claves: *alérgenos, hidrólisis enzimática y pepsina.*

Abstract:

The food proteins in addition to its nutritional value are known to exert biological activities on the organism. Proteins may be modified by various technological methods such as thermal treatment, chemical and enzymatic; these structural modifications can alter their biological properties and allergenicity. Among the methods used to modify proteins is enzymatic hydrolysis. Many proteins by the complexity of their structure result to be allergenic, depending on the degree of hydrolysis may be reduced or not allergenic potential. For this reason it is of great interest to know what occurs to the allergenic proteins in the gastrointestinal digestion either in native or denatured form.

Key words: *Allergenicity, allergens, enzymatic hydrolysis and pepsin.*

Las proteínas se hallan en el centro de acción de los procesos biológicos. Éstas llevan en su propia secuencia toda la información necesaria para alcanzar su destino y realizar sus funciones.

Algunas proteínas tienen una función estructural (son materiales estructurales de la célula), otras cumplen actividades fisiológicas, pues funcionan como enzimas que catalizan el complejo conjunto de reacciones químicas que se dan en las células. Las proteínas sirven como reguladores de estas reacciones, en forma directa como componentes de las enzimas y de manera indirecta como mensajeros químicos (hormonas) y como receptores de esas hormonas. Actúan en el transporte y almacenamiento de sustancias importantes de los procesos biológicos, por ejemplo, iones [\[BM1\]](#) metálicos, O₂, glucosa, lípidos y muchas otras moléculas. Las del sistema inmune las inmunoglobulinas, forman un sistema esencial de defensa biológica en los animales superiores (1, 2).

Las propiedades de una proteína están determinadas, en gran medida, por su estructura tridimensional. La estructura tridimensional de una proteína nativa (plegada desde el punto de vista fisiológico) está especificada por su estructura primaria, de modo que tiene un conjunto de características básicas. Esta estructura tridimensional se puede ver afectada por procesos externos que desestabilicen su estructura por ejemplo, desnaturalización por cambios de pH, detergentes, agentes químicos y calor que hacen que la proteína se despliegue. Esta alteración trae como consecuencia la modificación de sus propiedades fisicoquímicas: hidrofobicidad, solubilidad, viscosidad, etc. En algunos casos estos cambios permiten modificar y/o potenciar en ciertas proteínas alimentarias sus actividades biológicas. Convirtiéndolas así en elementos de interés para la industria alimentaria a la hora de obtener nuevos ingredientes funcionales (3).

Modificación de proteínas

Actualmente en el mundo existe un incremento en la demanda de productos alimenticios con propiedades funcionales, estas propiedades pueden ser conseguidas por medio de las proteínas modificadas.

Las modificaciones más conocidas son cambios estructurales en las proteínas por agentes físicos, químicos y enzimáticos. La modificación por desnaturalización térmica es usada para inducir cambios en la estructura de la proteína. La modificación química puede ser producida por acetilación, esterificación, fosforilación, tiolación y glicosilación. Estas modificaciones pueden producir cambios en la hidrofobicidad/ hidrofobicidad con aumento de la carga neta de la superficie de la proteína, y modificar el punto isoeléctrico y/o conformación resultando modificadas sus propiedades funcionales y como consecuencia pueden resultar alteradas sus propiedades biológicas (4, 5,6).

La función principal de las proteínas presentes en los alimentos es aportar el nitrógeno y los aminoácidos esenciales (aminoácidos que no pueden sintetizarse) que en una proporción

ideal se utilizan para la síntesis de las proteínas corporales y las demás sustancias nitrogenadas. Para poder utilizar estos aminoácidos, las proteínas deben ser digeridas. Por ello son sometidas a un complejo proceso de hidrólisis enzimática. Muchas proteínas por la complejidad de su estructura resultan ser alergénicas, dependiendo del grado de hidrólisis pueden reducir o no su potencial alergénico. Por esta razón resulta de mucho interés saber que le sucede a las proteínas alergénicas durante la digestión gastrointestinal ya sea en su forma nativa o desnaturalizada.

Digestibilidad de alérgenos alimenticios

La incidencia de alergias alimentarias en países desarrollados se encuentra en aumento y se estima que suele ser de un 10 % en niños y de un 2% en adultos (7,8). Se estima que en Estados Unidos mueren cerca de 125-150 personas al año por anafilaxis por alergias alimentarias (9). La prevalencia de las alergias al huevo se estima que puede llegar a ser entre 1,6- 3,2 % en los países desarrollados y es la segunda causa de alergias alimentarias en niños (10). Estudios epidemiológicos recientes sugieren que el mayor nivel de higiene en las poblaciones urbanas de los países desarrollados puede jugar un papel importante (11).

El término de hipersensibilidad alimentaria se refiere a todas aquellas reacciones individuales y adversas del organismo a determinados alimentos. Las proteínas son la principal causa de estas reacciones; otras moléculas también pueden provocar reacciones aunque suelen ser más leves y con menos frecuencia. Si en la respuesta del organismo está implicado el sistema inmunológico entonces la hipersensibilidad se denomina alergia alimentaria (12,13). Las alergias alimentarias son mediadas por anticuerpos denominados inmunoglobulinas E (IgE) y son clasificadas como reacciones de hipersensibilidad tipo I (14).

Un gran número de alérgenos alimenticios son estables en condiciones que simulan la digestión gastrointestinal *in vivo*. Entre estas proteínas no hay características comunes, aunque se asume que tienden a ser proteínas mayoritarias en los alimentos, resistentes a la digestión y estables a los tratamientos de procesado sobre todo al tratamiento térmico (15).

El cuerpo humano ha desarrollado un complejo sistema para descomponer los alimentos y extraer los nutrientes que necesita para mantener la salud. En la ingesta los alimentos en la boca se mezclan con la saliva. Luego son sujetos a un proceso gástrico por un periodo variable en el cual el pH puede ser muy bajo, este puede cambiar por el volumen, contenido de comida o presencia o ausencia de antiácidos consumidos por el individuo y finalmente entran los alimentos al duodeno donde son neutralizados, luego pasan al yeyuno e íleon. Durante esta fase de la digestión se mezcla con enzimas (amilasas, proteasas y lipasas) y con surfactantes (sales biliares y fosfolípidos) en el duodeno. Dependiendo del grado de hidrólisis en la fase gástrica y duodenal, las proteínas de los alimentos son degradadas a fragmentos más pequeños, para que puedan atravesar la capa de moco del epitelio. Para ello son convertidas en moléculas más pequeñas; como aminoácidos, di y tri-péptidos (16).

En general, lo que le sucede a las proteínas durante el proceso de digestión ha sido estudiado en sistemas animales *in vivo*, usando medidas de digestibilidad como el balance de nitrógeno, o con sistemas *in vitro* usando proteasas (17).

Las investigaciones en procesos digestivos en humanos supone tomar muestras principalmente del estómago y duodeno vía naso-gástrica/ vía-duodenal por aspiración, al resto del intestino es muy difícil acceder. Las muestras de este punto final se toman de voluntarios con ileostomía o de heces. Los estudios en sistemas animales son una alternativa bastante buena para reemplazar los estudios en sistemas humanos, especialmente cuando se refiere al caso de las alergias. Los estudios en humanos se dificultan por consideraciones éticas y técnicas, especialmente por la cantidad y el número de individuos voluntarios que se necesitan. Por esta razón se ha desarrollado la aplicación de modelos *in vitro* que utilizan condiciones que ocurren en los procesos *in vivo*.

Los modelos *in vitro* tienen muchas ventajas: se usan muestras representativas y se puede utilizar cualquier tiempo, desde el inicio hasta el punto final, se pueden testar matrices alimentarias o proteínas purificadas, etc. En los modelos *in vitro* se consideran tres fases: 1) fase bucal, 2) fase gástrica y 3) fase duodenal. En la fase bucal se trituran los alimentos y se homogenizan. Las proteínas purificadas tienen un tamaño de partícula reducido y la fase bucal es omitida. Para estudios de hidrólisis de proteínas la acción de las enzimas en la boca no tiene mucha importancia, pero si en el estómago y duodeno (16).

Los ensayos de digestión *in vitro* con pepsina en un principio fueron desarrollados y utilizados para evaluar el valor nutricional de las proteínas como fuentes de aminoácidos viables (18,19).

Posteriormente los avances de la tecnología recombinante permitieron usar la pepsina y otras proteasas para identificar los segmentos de las proteínas que se unen a las IgE (20, 21,22).

Astwood y col., (1996) (23) fueron los primeros en reportar la aplicación de un ensayo de digestión *in vitro* con pepsina para evaluar la digestibilidad de proteínas alimentarias. En ese estudio se comparó la digestibilidad de proteínas alergénicas frente a proteínas no alergénicas, en SGF (Fluido Gástrico Simulado consistente de 0,035 M NaCl a pH 1,2 con pepsina según la US Pharmacopoeia, 1995) (24). Muchos de esos alérgenos fueron estables durante 60 minutos de digestión o formaron fragmentos estables. Mientras, que las proteínas no alergénicas fueron digeridas rápidamente, sin formar fragmentos peptídicos estables. En este estudio se concluyó que los alérgenos pueden ser más estables a la digestión que las proteínas que no eran alergénicas, proponiéndose que la digestión puede ser un parámetro eficaz para distinguir alérgenos de proteína no alergénicas (23).

Muchos otros estudios se han llevado a cabo para determinar el potencial alergénico de las proteínas alimentarias utilizando también ensayos de digestibilidad *in vitro* con pepsina en SGF. Estos estudios apoyan que la digestión puede ser utilizada como herramienta clave para

predecir el potencial alergénico de las proteínas alimentarias (23, 25, 26,27). Muchos estudios han indicado la relación entre la estabilidad en SGF y el poder alergénico (28, 29, 30, 31, 32, 33,34).

Sin embargo, otros trabajos proponen que la resistencia a la digestión por pepsina no puede utilizarse como un método para predecir el poder alergénico, ya que ciertas proteínas alergénicas son hidrolizadas con facilidad en SGF (17, 28, 35, 36,37).

También se han realizado estudios sobre la estabilidad a la digestión en SGF de proteínas transgénicas (proteínas modificadas genéticamente) y su potencial alergénico (35, 36, 37, 38,39). Debido al uso de estas nuevas proteínas alimentarias, se decidió evaluar su potencial alergénico. Así el primer trabajo fue publicado por el International *Food Biotechnology Council* en 1996 (39), donde se utilizaron sistemas informáticos para identificar los sitios de IgE, se determinó la resistencia a la pepsina y por último se realizaron estudios clínicos.

En el año 2001, la FAO/ WHO recomiendan para los ensayos de seguridad alimentaria de proteínas modificadas genéticamente usar pH 1,2 – 2 en los ensayos de digestión y sugiere pH 1,2 como el pH óptimo para las condiciones de la digestión gástrica, proponiendo además una serie de consideraciones a tener en cuenta (40). Aprovechando todas las evidencias sobre ensayos de digestibilidad de proteínas alimentarias, se tuvieron en cuenta una gran variedad de factores experimentales que permiten evaluar el potencial alergénico de nuevas proteínas. Estas recomendaciones fueron establecidas por el *Codex Alimentarius Commission* (**Fig. 1**); Codex, 2003) (40). Cabe destacar que dentro de estas recomendaciones se encuentran los ensayos *in vitro* de resistencia a la digestión con pepsina como criterio para determinar el posible poder alergénico de las proteínas. También se ha medido la resistencia a la digestión en SIF (Fluido intestinal Simulado, US Pharmacopoeia, 2000) (41) de proteínas alergénicas y de proteínas no alergénicas (27).

Por otro lado se han realizado estudios de digestión gastrointestinal. En este tipo de ensayos se tienen dos fases: una primera donde se digiere con pepsina y seguidamente una segunda fase donde se utilizan una mezcla de enzimas (tripsina, quimotripsina, colipasa y lipasa). Estos ensayos permitieron determinar la digestibilidad de ciertos alérgenos y su posible potencial alergénico después de la digestión (43, 44,45).

La variabilidad en estudios sobre medida de la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en parte puede deberse a la falta de estandarización de los protocolos para ensayos de digestión de proteínas usando SGF. Estas variaciones pueden ser diferencias en el pH del ensayo, la pureza de la pepsina, la relación enzima/sustrato, la pureza de la proteína y su estructura, diversos métodos de procesado a los que se someten los alimentos (tratamientos térmicos) y, por último, el método de detección (17).

La producción de pepsina A, la principal clase de pepsina en estómagos de vertebrados comienza a producirse a partir del quinto día postnatal. La pepsina A es la mayor proteasa en el estómago de adultos. La diferencia entre adultos e infantes se debe a la acidez

del estómago pH 2 y pH 4 respectivamente (46). Dependiendo del sustrato el pH óptimo para la actividad máxima de la pepsina puede encontrarse entre pH 2 y pH 3.5 (47).

El pH de los ensayos de digestión con pepsina es determinante e influye en la digestibilidad de ciertas proteínas. A pH 2 muchas proteínas alergénicas presentan resistencia a la digestión por la pepsina, en algunos casos se forman fragmentos estables que conservan el potencial alergénico de la proteína nativa (35). La lisozima de clara de huevo presenta resistencia a la hidrólisis con pepsina a pH 2. La lisozima es más fácil de digerir con otras proteasas como la tripsina (17, 48, 49, 50, 51,52).

La relación enzima/sustrato juega un papel importante en la digestión de las proteínas. Se han realizado muchos estudios que han utilizado diferentes proporciones de enzima; esta variabilidad en la cantidad de enzima puede modificar la digestión de algunas proteínas (53). Algunas proteínas tienen resistencia a la digestión con pepsina aun cuando la relación de enzima/sustrato se modifique Fu y col., 2002, reportaron que la β - lactoglobulina B digerida con pepsina en SGF a pH 1,2 con las siguientes relaciones E/ S , 10: 1, 1: 1 y 1: 10 permaneció estable hasta los 120 minutos de digestión.

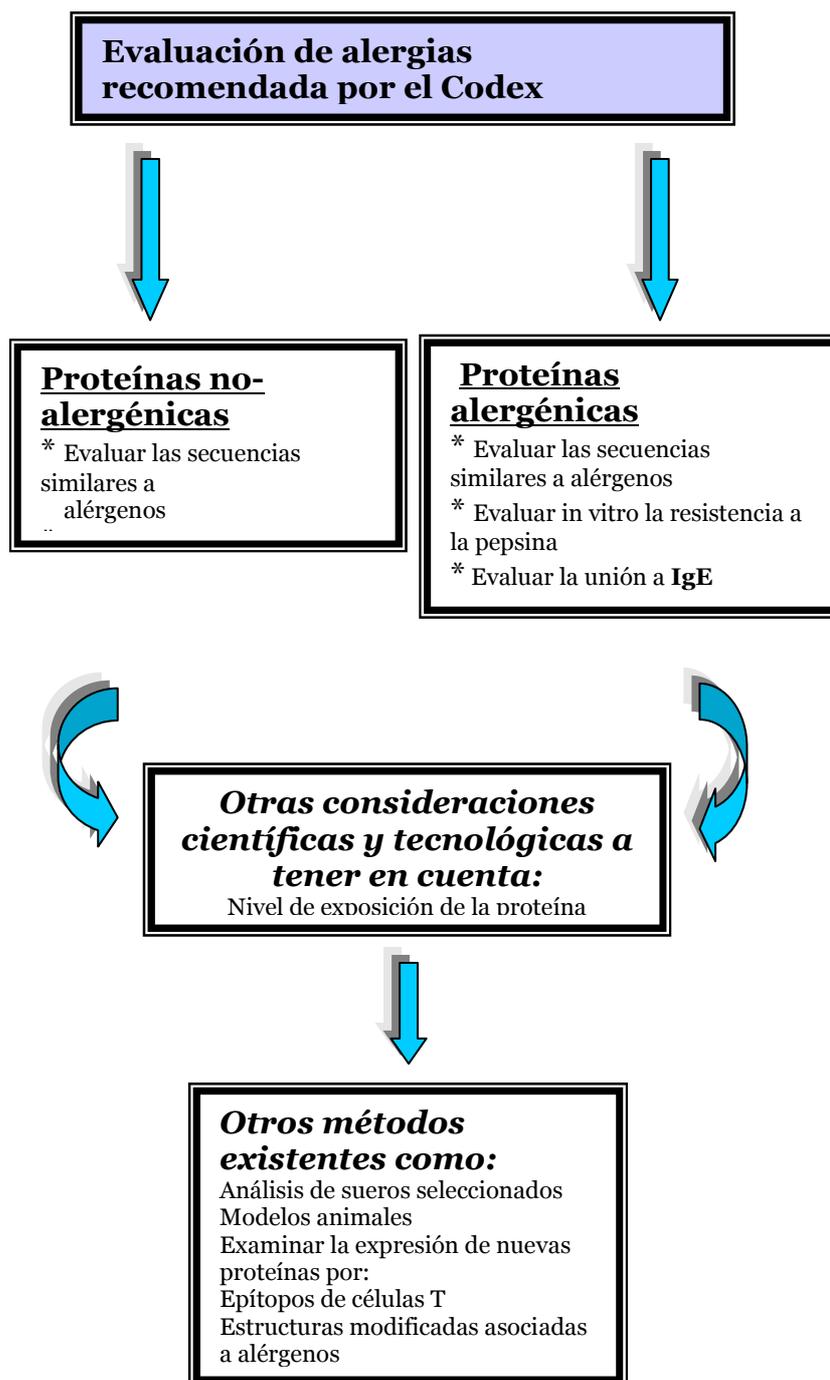


Figura 1. Evaluación de alergias para proteínas alimentarias recomendada por el Codex 2003 (40) (modificada)

Cuando se aborda el tiempo de digestión gástrica de proteínas alimentarias alérgicas siempre se relaciona con su estabilidad. Para proteínas

Cuando se aborda el tiempo de digestión gástrica de proteínas alimentarias alérgicas siempre se relaciona con su estabilidad. Para proteínas alimentarias no alérgicas a medida

que se aumenta el tiempo de incubación con la enzima la digestión aumenta. Sin embargo, en el caso de muchas proteínas alimentarias alergénicas se presenta una alta estabilidad después de 120 minutos como en el caso de la β -lactoglobulina (27). A modo de ejemplo en la **Tabla 1**, se pueden ver la estabilidad en SGF de los cuatro alérgenos más importantes presentes en la clara de huevo.

Tabla 1. Digestión de alérgenos del huevo en SFG¹

Alérgenos	Tiempo (min)	E/ S (p/p) ²	pH
Ovomucoide	8	19	1.2
	0	13	1.2
	0.5	3	2.0
Ovoalbúmina	60	19	1.2
	5	13	1.2
	30-60	3	1.2
	30-60	3	2.0
	5	2 y 8	1.2
Ovotransferrina	60	3	2.0
	0	19	1.2
	0	13	1.2
Lisozima	60	13	1.2

¹Modificada de Moreno FJ. (42)

²Relación enzima/sustrato

Por otro lado, los alimentos sufren una cantidad de procesos ya sea a nivel de consumo o industrial, los cuales pueden cambiar la estructura de las proteínas y como consecuencia modificar su características funcionales. Por ejemplo, durante la cocción de los alimentos las proteínas son desnaturalizadas, exponiendo regiones que se encuentran ocultas, que cambian la superficie de la molécula, su hidrofobicidad, etc. La lisozima de huevo se desnaturaliza alrededor de 70-75° C, dependiendo del pH y las condiciones de la solución (54-55). Además es más sensible al calor cuando está en la clara que sola en solución de fosfato pH 7-9. Cuando la clara se calienta a 63,5° C durante 10 minutos la lisozima se inactiva, ocurriendo esto en mayor medida cuando el pH es superior a 7 (56).

Recientemente en el estudio de estructuras de proteínas envueltas en matrices complejas como la leche se han utilizado técnicas inmunoquímicas para determinar diferencias en sus estructuras. Las técnicas inmunoquímicas fueron utilizadas para distinguir entre la forma nativa y desnaturalizada de la α -lactoalbúmina (α La) en la leche. El tratamiento térmico como la ultra alta temperatura (UHT) o esterilización, permite que ciertos epitopos desaparezcan cuando aumenta la temperatura, mientras que nuevos epitopos aparecen gradualmente (57-58).

La desnaturalización térmica puede llegar a favorecer la digestión enzimática de ciertas proteínas, como la β lactoglobulina que vio favorecida su hidrólisis cuando fue previamente calentada (59). Ese aumento en la digestibilidad en algunos casos puede llegar a disminuir o no su capacidad alérgica. Por ejemplo, se ha descrito que el ovomucoide, el mayor de los alérgenos de la clara de huevo, sigue manteniendo su poder después de ser calentado (60).

Las proteínas alimentarias se encuentran envueltas en matrices muy complejas. Además durante el cocinado interactúan con otros compuestos en los alimentos. Por ejemplo, en el huevo se encuentra un elevado porcentaje de lípidos que pueden interactuar con las proteínas presentes. En el huevo se encuentra la fosfatidilcolina un fosfolípido de mucha importancia para el desarrollo normal de muchas células y regiones cerebrales (60). Por ello, se han llevado a cabo estudios para determinar la influencia en la digestibilidad y poder alérgico de las proteínas tratadas con fosfolípidos. Moreno y col., (2005a) realizaron un ensayo de digestibilidad de la α -lactoalbúmina con fosfatidilcolina y concluyeron que la digestibilidad gástrica *in vitro* con pepsina del complejo se ve protegida.

Conclusión

Una característica importante de un alérgeno es su capacidad de mantener cierta parte de su estructura a través del tracto digestivo. Por esta razón, es importante saber qué le ocurre a las proteínas alérgicas durante el proceso de la digestión. En principio se propuso la resistencia a la digestión con pepsina en SIF (Fluido Gástrico Simulado) como método para predecir el poder alérgico de proteínas alimentarias pero se sabe que ciertas proteínas alérgicas se digieren con facilidad en este medio. A pesar de esta contradicción este método sigue siendo aceptado como herramienta para predecir la capacidad alérgica de proteínas normales y transgénicas. Este método es sencillo y resulta fácil de estandarizar sus condiciones, es económico y reproducible.

Agradecimientos

Agradezco a la Comunidad de Madrid por el Contrato de Personal de Apoyo de Investigación y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas por los medios proporcionados durante mi formación predoctoral.

Referencias

1. **Bioquímica. Donald Voet and Judith G Voet** (2006) Editorial: Médica Panamericana.
2. **Pihlanto A, and Korhonen, H.** (2003) Bioactive peptides and proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol 47. DOI: 10.1016/S1043-4526(03)47004.
3. **Touch V, Hayakawa S, Fukada K, Aratani Y and Sun Y** (2003) Preparation antimicrobial reduced lysozyme compatible in Food Applications. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 5154-5161.
4. **Corzo-Martínez M, Soria AC, Belloque J, Villamiel M, Moreno FJ** (2010) Effect of glycation on the gastrointestinal digestibility and immunoreactivity of bovine β -lactoglobulin. *International Dairy Journal* 20: 742-752.
5. **Ramezani R, Esmailpour M, Aminlari M** (2008) Effect of conjugation with glucosamine on the functional properties of lysozyme and casein. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 15: 2730-2737.
6. **Foster RM, Kimber I, Dearman RJ** (2013) Relationship between protein digestibility and allergenicity: Comparisons of pepsin and cathepsin. *Toxicology* 309: 30–38.
7. **Sicherer SH and Sampson HA** (2006) Food Allergy. *Journal Allergy Clinical Immunology* 117: 470-475.
8. **Sampson HA, Sicherer SH and Birnbaum AH** (2000) AGA technical review on the evaluation of gastrointestinal manifestations due to immunologic reactions to foods in infants and young children. *Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition* 30: (suppl): S87-94.
9. **Mine Y and Yang M** (2008) Recent Advances in the Understanding of Egg Allergens: Basic, Industrial, and Clinical Perspectives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 4874-4900.
10. **Renz H, Blümer N, Virna S, Sel S and Gran H** (2006) The immunological basis of the hygiene hypothesis. En: *Allergy and Asthma in Modern Society: A Scientific Approach*. Chem. Immunol. Allergy. Ed. Cramer, R.; Karger. Basilea, Suiza 91: 30-48.
11. **Johansson SGO, Bieber T, Friedman PS (2004)** Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Rewie Committee of the world Allergy Organization. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 113: 832-836.

12. **Holgate ST, Polosa R** (2008) Treatment strategies for allergy and asthma. *Nature Reviews Immunology* 8: 218-230.
13. **Ebo D, Stevens W** (2001) IgE- mediated Food Allergy. *Acta Clinica Belgica* 56:4: 234-247.
14. **Taylor SL, Lehrer SB** (1996) Principles and characteristics of food allergens. *Critical review in Food Science and Nutrition* 36: S165-S186.
15. **Wickham M, Faulks R, Mills C** (2009) In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Molecular Nutrition & Food Research* 53:8:952-958.
16. **Thomas K, Aalbers M, Bannon GA, Bartels M, Dearman RJ, Esdaile DJ, et al** (2004) A multi-laboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. *Regulatory Toxicology Pharmacology* 39, 87-98.
17. **Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I, Spitzauer S, Valenta R** (2014) Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods* 66: 22–33.
18. **Nielson SS** (1988) Degradation of bean proteins by endogenous and exogenous proteasas-a review. *Cereal Chemistry* 65: 435-442.
19. **Budd TW, Kuo CY, Cazin J and Yoo TJ** (1983) Allergens of *Alternaria*: further characterization of a basic allergen fraction. *International Archives of Allergy Applications Immunology* 71: 83-87.
20. **Kawashima T, Taniai M, Usuai M, Ando S, Kurimoto M and Matuhasi T** (1992) Antigenic analysis of Sugi basic protein by monoclonal antibodies: II. Detection of immunoreactive fragments in enzyme-cleaved Cry j 1. *International Archives of Allergy Immunology* 98: 118-126.
21. **Lorusso JR, Moffat S, Ohman JL** (1986) Immunologic and biochemical properties of the major mouse urinary allergen (Mus m 1). *Journal of Allergy Clinical Immunology* 78 (5), 928–937.
22. **Astwood JD, Fuchs RL** (1996) Allergenicity of foods derived from transgenic plants. *Monogram Allergy* 32, 105–120.
23. **US Pharmacopoeia** (1995) the National Formulary USP XXIII, NF XVIII, US Pharmacopoeia Convention Inc, Mack Printing Co, Easton PA p. 2053.
24. **Besler M, Steinhart H, Paschke A** (2001) Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. *Journal Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 756 (1-2), 207–228.
25. **Burks AW, Sampson HA** (1997) Anaphylaxis and food allergy. In: Metcalfe, D.D., Sampson, H.A., Simon, R.A. (Eds.), *Food Allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives*. Blackwell Science, Cambridge, MA pp. 25–245.

26. **Fu TJ, Abbott UR, Hatzons C** (2002) Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid- A comparative study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 7154-7160.
27. **Kenna JG, Evans RM** (2000) Digestibility of proteins in simulated gastric fluid. *Toxicologist* 54: 141.
28. **Díaz-Perales A, Blanco C, Sánchez-Monge R, Varela J, Carrillo T, Salcedo G** (2003) Analysis of avocado allergen (Prs a1) IgE-binding peptides generated by simulated gastric fluid digestion. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 112: 1002-1007.
29. **Herman RA, Woolhiser M, Ladics G, Schafer BW, Korjagin VA** (2004) Digestion Efficiency of Allergens and Non-allergens in Simulated Gastric Fluid. MRID# 4638801. Washington, DC: U.S. *Environmental Protection Agency*.
30. **Lee SK, Ion SH, Choi JH and Park SH** (2005) Chestnut as food allergen: Identification of major allergens. *Journal of Korean Medical Science* 20: 573-578.
31. **Murtagh GJ, Dumoulin M, Archer DB, Alcocer MJ** (2002) Stability of recombinant 2 S albumin allergens *in vitro*. *Biochemical Society Transactions* 30:913–915.
32. **Vieths S, Reindl J, Muller U, Hoffmann A, Haustein D** (1999) Digestibility of peanut and hazelnut allergens investigated by a simple *in vitro* procedure. *European Food Research Technology* 209:379–388.
33. **Yagami T, Haishima Y, Nakamura A, Osuna H, Ikezawa Z** (2000) Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 106:752–762.
34. **Bannon GA, Goodman RE, Leach JN, Rice E, Fuchs RL, Astwood JD** (2002) Digestive stability in the context of assessing the potential allergenicity of food proteins. *Comments Toxicology* 8: 271–285.
35. **Bannon G, Fu TJ, Kimber I, Hinton DM** (2003) Protein digestibility and relevance to allergenicity. *Environmental Health Perspectives* 111: 1122–1124.
36. **Goodman RE, Hefle SL and Van Ree R** (2005) Assessing genetically modified crops to minimize the risk of increased food allergy: a review. *International Archives of Allergy Immunology* 137: 153-166.
37. **Mendelsohn M, Kough J, Vaituzis Z, Matthews K** (2003) Are BT crops safe? *Nature Biotechnological* 21:1003–1009.
38. **Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL** (1996) Assessment of the allergenic potential of foods from genetically engineered crop plants. *Critical Review Food Science and Nutrition* 36 (S) 165–186.

39. **FAO/WHO** (2001). Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. January 22– 25. Rome, Italy.
40. **Codex Alimentarius Commission** (2003) Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, Italy 30 June–5 July, 2003. Appendix III, Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant-DNA plants and Appendix IV, Annex on the assessment of possible allergenicity, pp. 47–60.
41. **US Pharmacopoeia** (2000) the National Formulary. USP XXIV, NF XIX, US Pharmacopoeia Convention, Inc., Mack Printing Co, Easton, PA p. 2235.
42. **Moreno FJ** (2007) Gastrointestinal digestion of allergens: Effect on their allergenicity. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 61: 50-60.
43. **Moreno FJ, Mellon FA, Wickman MSJ, Bottrill AR and Mills ENC** (2005a) Stability of the major allergen Brazil nut 2S albumin (Ber1) to physiologically relevant in vitro gastrointestinal digestion. *FEBS Journal* 272: 341-352.
44. **Moreno F J, Mackie AR, & Mills ECN** (2005b) Phospholipid's interactions protect the milk allergen alpha-lactalbumin from proteolysis during in vitro digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9810–9816.
45. **Ibrahim HR, Inazaki D, Abdou A, Aoki T, Kim M** (2005) Processing of lysozyme at distinct loops by pepsin: A novel action for generating multiple antimicrobial peptide motifs in the newborn stomach. *Biochimica et Biophysica Acta* 1726: 102 –114.
46. **De Ardila AH** (2009) Fisiopatología de la enfermedad por reflujo gastroesofágico. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 24:1: 87-94.
47. **Polverino de Laureto P, Frare E, Gottardo R, Van Dael H and Fontana A** (2002) Partly folded status of members of the lysozyme/lactalbumin superfamily: A comparative study by circular dichroism spectroscopy and limited proteolysis. *Protein Science* 11: 2932-2946.
48. **Mine Y, Ma FP and Lauriau S** (2004) Antimicrobial peptides released by enzymatic hydrolysis of hen egg white lysozyme. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 58: 1088-1094.
49. **Carrillo W, Lopez-Fandiño R, Belloque J, Molina E** (2008) Immunogenic properties of hen egg White lysozyme digests. *Allergy* 68: 404-405.
50. **Ofori-Anti AO, Ariyaratna H, Chen L, Pramod SN and Goodman RE** (2008) Establishing objective detection limits for pepsin digestion assay used in the assessment of genetically modified and foods. *Regulatory Toxicology Pharmacology* 52: 94-103.

51. **Jiménez-Saiz R, Martos G, Carrillo W, López-Fandiño R, Molina E** (2011) Susceptibility of lysozyme to in-vitro digestion and immunoreactivity of its digests. *Food chemistry* 127: 1719-1726.
52. **Herman RA, Storer NP, GAO Y** (2006) Digestion assays in allergenicity assessment of transgenic proteins. *Environmental Health Perspective* 114: 1154–1157.
53. **Ibrahim HR, Thomas U and Pellegrini A** (2001) A helix-loop-helix peptide at the upper lip of the active site cleft of lysozyme confers potent antimicrobial activity with membrane permeabilization action. *Journal of Biological Chemistry* 276: 43767-43774.
54. **Ibrahim HR, Higashiguchi S, Koketsu M, Juneja LR, Kim M, and Yamamoto T** (1996) A structural phase of heat-denatured lysozyme with novel antimicrobial action. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 44: 1416-1423.
55. **Fennema OR** (1998) *Food Chemistry*. Ed. Marcel Dekker, Inc. 3^a Edi. pp. 321-429.
56. **Jeanson S, Dupon D, Grattarol N and Rolet-Rópezcaud O** (1999) Characterization of the Heat Treatment Undergone by Milk Using two Inhibition ELISAs for Quantification of Native and Heat Denatured α -Lactoalbumin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47: 2249-2254.
57. **Dupon D, Rolet-Rópezcaud O and Muller-Renaud S** (2004) Determination of the Heat treatment Undergone by Milk by Following the Denaturation of α -Lactalbumin with a biosensor. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 677-681.
58. **Hernández-Ledesma B, Ramos M, Recio I, Amigo L** (2006) Effect of beta-lactoglobulin hydrolysis with thermolysin under denaturing temperatures on the release of bioactive peptides. *Journal of Chromatography A*. 1116(1-2):31-37.
59. **Mine Y and Yang M** (2008) Recent Advances in the Understanding of Egg Allergens: Basic, Industrial, and Clinical Perspectives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56: 4874-4900.

El autor es Docente-Investigador de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar



Química Viva

E-ISSN: 1666-7948

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Universidad de Buenos Aires
Argentina

Torres R., Eugenio; Moreno S., Rogelio; Tamayo V., Yosvel; Hermosilla E., Robinson; Guillén G.,
Zonia

Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L.

Química Viva, vol. 13, núm. 2, agosto-, 2014, pp. 123-129

Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86331633006>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L.

¹Eugenio Torres R., ¹Rogelio Moreno S., ¹Yosvel Tamayo V., ¹Robinson Herмосilla E., ²Zonia Guillén G.

¹Centro de Estudio de Química Aplicada. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba.

²Universidad de Ciencias Pedagógicas. Blas Roca Calderío. Manzanillo, Granma. Cuba

*Correo electrónico: etorresrodriguez@udg.co.cu

Resumen

La *Curcuma longa* L. es una planta que se encuentra en estado silvestre en las zonas montañosas de las regiones oriental y occidental de Cuba, cuyos rizomas son ricos en aceite esencial. El propósito de este trabajo es evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial extraído de los rizomas de *Curcuma longa* L. Se probaron diversos métodos para la extracción del aceite esencial de los rizomas de la planta, siendo la hidrodestilación el más eficiente. El aceite obtenido fue evaluado frente *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, mostrando actividad antibacteriana frente a las cuatro especies estudiadas, siendo más promisoria su acción frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* con CBM de 32 y 8 respectivamente.

Palabras clave: *Curcuma longa* L., hidrodestilación, actividad antibacteriana

Study of antibacterial activity of essential oil from rhizomes of *Curcuma longa* L.

Abstract

Curcuma longa L. is a plant that is found in wild state in the mountainous areas of eastern and western regions of Cuba whose rhizomes are rich in essential oil. The purpose of this work is to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil present in the rhizomes of *Curcuma longa* L. Diverse methods were tested for the extraction of the essential oil of the plant rhizomes. The hydrodistillation was the most efficient. The obtained oil was evaluated in front of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, showing antibacterial activity against four species, being more effective against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* with CBM of 32 and 8 respectively.

Key words: *Curcuma longa* L., hydrodistillation, antibacterial activity

Introducción

La *Curcuma longa* L. es una planta que se encuentra en estado silvestre en las zonas montañosas de las regiones oriental y occidental de Cuba y aparece además ocasionalmente en las parcelas de algunos campesinos (1). A la misma se le atribuyen propiedades antioxidantes (2), hepatoprotectoras (3), anticancerígenas (4) y quimioprotectoras (5). En los rizomas de la planta se encuentra un aceite esencial en un 2,44 % (6), constituido por una mezcla de terpenos y turmerona como componentes mayoritarios, lo que le confiere potencial actividad antimicrobiana (7, 8).

Datos farmacoepidemiológicos recientes (9), sugieren que la efectividad de los agentes antimicrobianos disponibles en los servicios de salud ha disminuido, incluso, en varios círculos científicos y académicos se señala la preocupación por el advenimiento de la denominada "era postantibiótica", además de la pérdida gradual de las habilidades orgánicas para detectar, contener y prevenir enfermedades emergentes. A esta situación se suma el incremento de infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, lo que ha dado lugar a la necesidad de terapias más efectivas para combatir estos agentes patógenos, otrora benignos (10).

Teniendo en cuenta la necesidad de encontrar nuevos agentes antibacterianos y la posibilidad de emplear el aceite esencial de *Curcuma longa* L. como bactericida natural, en este trabajo se planteó como objetivo: evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial extraído de los rizomas de *Curcuma longa* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la identificación de la planta se herborizó un ejemplar representativo que fue depositado en el Departamento de Ingeniería Forestal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Granma, Cuba, con la identificación UDG H 012. La biomasa se recolectó de forma aleatoria en canteros pertenecientes al centro de estudio de Biotecnología vegetal de la Universidad de Grama, Cuba, a las 9:00 a.m. del 6 de marzo de 2013, a una temperatura de 24 °C y fue clasificada con el objetivo de eliminar la parte del material que no reunía las condiciones óptimas para el estudio. Los rizomas de *Curcuma longa* L. frescos y previamente tratados con hipoclorito de sodio (1 %) fueron cortados y triturados. 240 g de masa vegetal preparada, fueron sometidos a hidrodestilación en un aparato constituido por una balón con calentamiento y condensador acoplado, en el balón con calentamiento se colocó la masa vegetal y 500 mL de agua destilada. El aceite esencial fue recogido en otro balón (recipiente colector) en el que se añadieron 100 mL de diclorometano. La mezcla de aceite, diclorometano y agua colectada fue separada en un embudo, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, después de filtrar. El diclorometano fue separado del aceite por evaporación al vacío, a una temperatura de 40 °C y presión de 5 mbar (500 Pa) durante 30 min, lo que garantizó la total eliminación del disolvente. La pureza del aceite fue determinada por cromatografía de capa fina

en cromatofolios (Al) de gel de sílice 60 F 254 con espesor de capa 0,2 mm (Merck). La visualización de las placas se efectuó en lámparas de UV (Typ NU-8KI, l: 254 nm).

El aceite extraído fue evaluado frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 57853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633). Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco (*Bauer-Kirby*) para bacterias y el método de diluciones seriadas dobles en caldo. Se emplearon discos de antibióticos comerciales (Sensi-DiscTM, Francia), ampicilina 30ug/ml. Se prepararon soluciones *stock* a una concentración final de 6 µg/µL y se aplicaron 5 µL en discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro. La concentración final de los compuestos químicos en los discos fue de 30 µg/disco. Como control negativo se emplearon discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro cargados con 5 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), que fue el solvente empleado en la preparación de las soluciones a evaluar.

Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a los compuestos que mostraron actividad antimicrobiana por el método de *Bauer-Kirby* al inhibir el crecimiento de alguna de las bacterias evaluadas. Las disoluciones de los compuestos se prepararon a una concentración dos veces mayor que la máxima concentración a definir en el momento del ensayo. Se prepararon soluciones *stock* de 2048 µg/mL en DMSO. Se depositaron 100 µL de medio de cultivo caldo Mueller-Hinton (Biolife, Italia) (pH 7,3 ± 0,2) para bacterias en los 96 pocillos de las placas (Falcon, EEUU). De cada solución *stock* se añadieron 100 µL en los tres primeros pocillos (tres réplicas) y se mezclaron vigorosamente mediante pipeteo. Se tomaron 100 µL de esta mezcla y se pasó a la segunda fila de tres pocillos repitiéndose el procedimiento hasta llegar al antepenúltimo trío de pocillos. De esta forma, en los primeros pocillos se encuentra la mayor concentración del antimicrobiano, la que va disminuyendo al doble en el resto de los pocillos. La mínima concentración inhibitoria se define como la mínima concentración que inhibe completamente (a simple vista) el crecimiento del microorganismo (11).

Para la determinación de la concentración bactericida mínima CBM se tomaron con una micropipeta 100 µL de cada tubo de las concentraciones de ensayo donde no se observó crecimiento visible y se añadieron en la superficie de tres placas con medio agar Mueller-Hinton (Biolife, Italia) (pH 7,3 ± 0,2) sembradas con los correspondientes cultivos bacterianos. Para lo cual el inóculo se distribuyó con espátulas de Drigalsky sobre la superficie del agar. Después de un reposo de 15-30 min las placas se incubaron a 37,0 ± 0,5 °C por un período de 16-18 h, en una incubadora (Sartorius, China). Transcurrido el tiempo de incubación se procedió al conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) utilizando un contador de colonias. La Concentración Letal Mínima (CLM) fue definida como la menor concentración de la sustancia de ensayo que mata el 99,9 % del inóculo inicial. Un conteo de viables ≤ 10 UFC fue indicativo de un efecto bactericida (11).

RESULTADOS

La hidrodestilación al ser un método más drástico, permite el calentamiento directo de la masa vegetal en medio acuoso, con la posterior separación de los componentes volátiles que son trasladados por el vapor de agua y recogidos en un disolvente apropiado (diclorometano), lo que garantiza una alta eficiencia. El secado del aceite con sulfato de sodio anhidro y su posterior evaporación al vacío permitieron eliminar el agua y el disolvente lo que condujo a la obtención de un aceite con comprobada pureza cromatográfica (Figura 1).



Figura 1. Cromatografía de capa fina del acetite esencial en tolueno-acetato de etilo (5:1).

Mediante hidrodestilación se realizaron cinco extracciones del aceite esencial a partir 240 g de los rizomas de *Curcuma longa* L. (Tabla 1), obteniéndose 2,70 g de un líquido amarillo pálido para un 1,09 % de rendimiento.

Tabla 1. Resultados de las extracciones mediante hidrodestilación.

Extracciones	Masa vegetal(g)	Tiempo(h)	Masa de Aceite (g)	Rdto (%)
1	246	3	2,80	1,1383
2	246	3	2,60	1,0569
3	246	3	2,75	1,1178
4	246	3	2,65	1,0772
5	246	3	2,70	1,0975
\bar{X}	246	3	2,70	1,0975

\bar{X} : Media; Rdto: Rendimiento

Se realizó un estudio de la actividad antimicrobiana del aceite esencial obtenido frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* (Tabla 2), observándose actividad antibacteriana en todos los casos.

Tabla 2. Resultados de la pruebas biológicas.

Compuesto (µg/mL)	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Curcumina	>128	>128	128	>128	64	112	68	124
A.Esencial	128	128	32	64	8	32	4	8
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-
Ampicilina	12,5	16,7	8,,3	11,13	1,56	3,52	1,56	2,23

CIM: concentración inhibitoria mínima; CBM: concentración bactericida mínima.

DISCUSIÓN

Mediante arrastre con vapor no fue posible extraer el aceite esencial de los rizomas de *Curcuma longa* L., lo que se explica debido a la alta temperatura de ebullición del mismo, que le confiere el alto contenido de turmerona (Asghari et al., 2009). Sin embargo la hidrodestilación permitió una extracción efectiva y reproducible como lo demostró el comportamiento similar en las cinco extracciones realizadas mostradas en la Tabla 1.

El aceite esencial obtenido mostró actividad antibacteriana frente a las cuatro cepas estudiadas, resultando más potente que la curcumina.

El empleo de ampicilina como control positivo responde a que este antibiótico es considerado como uno de los fármacos automedicados por la población cubana, por otra parte la solubilidad del ampicilina en agua permite preparar las diferentes diluciones en un solvente inocuo que no interfiere con los resultados.

La mayor actividad del aceite se observó frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* con CBM de 32 y 8 respectivamente (Tabla 2). Este resultado puede explicarse debido a su alto contenido de monoterpenos y turmerona (12). Resulta interesante la actividad bactericida mostrada por el aceite esencial frente a bacterias Gram-positivas lo que puede constituir un punto de partida en la búsqueda de nuevos antibióticos naturales, efectivos contra bacterias Gram-positivas.

Los resultados alcanzados son muy tentativos, por cuanto sugieren que es posible emplear este aceite esencial para el tratamiento de enfermedades causadas por cepas de *Staphylococcus aureus* patógenas. *Bacillus subtilis* no constituye una bacteria de interés patogénico, sin embargo, en esta investigación fue empleada como modelo biológico de referencia para los gérmenes Gram-positivos en general; ya que en ocasiones esta bacteria se considera modelo como lo es *Escherichia coli* para el caso de las bacterias Gram-negativas (13).

CONCLUSIONES

El aceite esencial contenido en los rizomas de *Curcuma longa* L. puede ser extraído eficientemente mediante hidrodestilación sin necesidad de secar previamente la masa vegetal. El aceite esencial de rizomas de *Curcuma longa* L. mostró actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* siendo más promisorio frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, con CBM de 32 y 8 respectivamente.

REFERENCIAS

1. **Espinosa A, Silva J, Borges M, González O, Pérez J, Fajardo L.** (2012) Evaluación de plantas de *Curcuma longa* L. obtenidas por cultivo de tejidos en condiciones de organopónico. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 14: 196-202.
2. **Cousins M, Adelberg J, Chen F, Rieck J.** (2007). Antioxidant capacity of fresh and dried rhizomes from four clones of turmeric (*Curcuma longa* L.) grown *in vitro*. [Versión electrónica]. *Industrial Crops & Products*. 25: 129-135.
3. **Medina A, García R, Ramos, L.** Efecto antihepatotóxico de la *Curcuma longa*. Extraído el 23 de febrero del 2012 de www.ilustrados.com/publicaciones/EEF.
4. **López-Lazaro M.** (2008) Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: Considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent *Molecular Nutrition and Food Research*. 52: S103 – S127.
5. **Anand P, Thomas SG, Jaikumar A, Kunnumakkara B, Sundaram C, Kuzhuvilil B. Harikumar, Sung B, et al.** (2008) Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical Pharmacology* 76: 1590–1611.
6. **Mesa M, Ramírez-Tortosa M C, Aguilera CM, Ramírez-Boscá A, Gil A** (2000) Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars Pharmaceutica*. 41: 307-321.

7. **Asghari G, Mostajeran A, Shebli M** (2009) Curcuminoid and essential oil components of turmeric at different stages of growth cultivated in Iran. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 4: 55-61.
8. **Kalemba, D, Kunicka** (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-29.
9. Muñoz García P Ma, Peláez García T, Alcalá Hernández L, Bouza Santiago E. (2006) Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas-VIH. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.
10. **Franklin TJ, Snow GA**. Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action. Sixth edition. Springer Science-I-Business Media, Inc. (2005). 29-98.
11. **Mathew A. Vilker, Franklin C. Cockerlill, Karen Bush, Michael N.Dudley, George M. Eliopoulus, Dwight J. Hardy, et al.** (2009). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Nineteenth Informational Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI document M100-S19. Wayne Pa: CLSI.
12. **Tripathi AK, Prajapati V, Verma N, Bahl NJ, Bansal RP, Khanuja SPS, Kumar,S** (2002) Bioactivities of the Leaf Essential Oil of Curcuma Longa On Three Species of Stored-Product Beetles (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology*. 95: 183-189.
13. **Tan M, Zhou L, Huang Y, Wang Y, Hao X, Wang J** (2008). Antimicrobial activity of Globulol isolated from the fruits of Eucalyptus globulus Labill. *Natural Products Research*. 22: 569-575.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 2, año 13, Agosto 2014

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar