
Ciencia, Tecnología y Salud

Revista Centroamericana de Investigación y Postgrado
Universidad de San Carlos de Guatemala

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Volumen 8 Número 1

enero / junio 2021

Artículos científicos

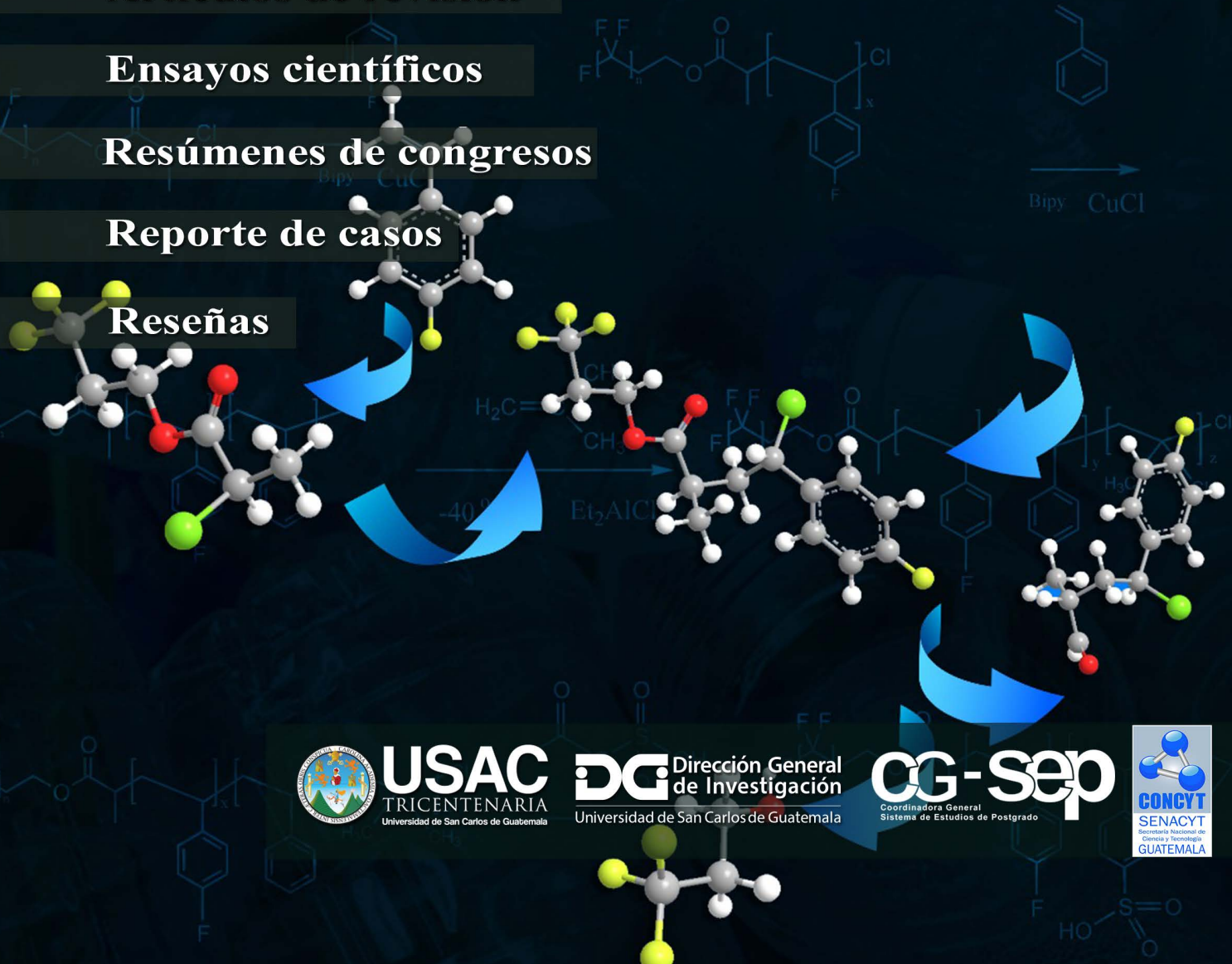
Artículos de revisión

Ensayos científicos

Resúmenes de congresos

Reporte de casos

Reseñas



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala

DG Dirección General
de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

CG-sep
Coordinadora General
Sistema de Estudios de Postgrado



Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Directorio / Board-Staff

Director de la revista

Félix Aguilar-Carrera

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor en jefe

Félix Aguilar-Carrera

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Editor Adjunto

Armando Cáceres

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Co-editores y Editora Ejecutiva

Augusto S. Guerra-Gutiérrez

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Rosario Godínez

Sistema de Estudios de Postgrado, Usac, Guatemala

Andrea E. Rodas-Morán

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Asistente de Editores

Comité Editorial

Liuba M. Cabrera-Ovalle

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Oscar M. Cóbar-Pinto

Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología

José A. Franco

Universidad del Norte de la Florida

Dennis Guerra-Centeno

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Usac, Guatemala

Hugo R. Muñoz-Roldán

Facultad de Odontología, Usac, Guatemala

Oscar F. Nave

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac, Guatemala

Julio R. Salazar-Pérez

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Hilda E. Valencia-Marroquín

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Erick J. Velásquez-Castillo

Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología

Patricia Velez-Möller

Facultad de Ciencias Médicas, Usac, Guatemala

Consejo Editorial

Ania Torres

Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos (Cencec), Cuba

Mary Almanzar Santos

Universidad Autónoma de Santo Domingo, República Dominicana

Carolina Arévalo Valdéz

Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, Guatemala

Byron Calgua

Naciones Unidas, Suiza

Silvia Duran

Universidad Autónoma de Nicaragua (Unan-Leon), Nicaragua

Fernando García-Santamaría

Universidad de Costa Rica (UCR), Costa Rica

Cristian Kraker-Castañeda

Colegio de la Frontera Sur, México

Eduardo López-Bastida

Centro de Estudios de Energía y Medio Ambiente, Cuba

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Directorio / Board-Staff

Carmen E. Madriz

Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica

María C. Monroy

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac, Guatemala

Leonardo Mendoza-Blanco

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (Unan-León),
Nicaragua

Enrique Pazos

Escuela de Física y Matemáticas, Usac, Guatemala

José L. Plazao-Prado

Universidad Nacional de Ingeniería, Nicaragua

María G. Reyes

Universidad Marítima Internacional de Panamá, Panamá

Francisco Romero-Royo

Universidad Tecnológica Nacional, Costa Rica

Benjamin A. Rosales-Rivera

Universidad Nacional de Ingeniería (Uni), Nicaragua

Igor I. Slowing-Umaña

Iowa State University, United States of America

Janzel Villalaz

Universidad de Panamá, Panamá

Unidad de Publicaciones y Divulgación

Marlene P. Pérez-Muñoz

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Asesores de edición

Dara S. Higueros Pellecer

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

José D. Marroquín

Dirección General de Investigación, Usac, Guatemala

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Contenido / Contents

Editorial / Editorial 5

In memoriam 7

Artículo Científico / Scientific Article

Inhibición de las actividades proteolítica y fosfolipasa A₂ del veneno de *Bothrops asper* por el extracto etanólico de *Neurolaena lobata* (L.) Cass.

Inhibition of proteolytic and phospholipase A₂ activities of Bothrops asper venom by the ethanolic extract of Neurolaena lobata (L.) Cass.

Patricia Saravia-Otten, Rosario Hernández, Nereida Marroquín, Gabriela García, Federico Nave, Lorena Rochac, Vicente Genovez, Max Mérida, Sully M. Cruz, Armando Cáceres, José M. Gutiérrez 10

Diversidad de árboles en cuatro etapas de sucesión ecológica del bosque tropical montano nuboso del altiplano occidental de Guatemala

Diversity of trees in four stages of ecological succession of the tropical montane cloud forest in Guatemala's western plateau

Sergio M. Godínez 24

Fenología reproductiva de *Prunus lundelliana* Standl. (Rosaceae), un árbol en peligro de extinción con potencial para restaurar bosques nubosos de Mesoamérica

Reproductive phenology of Prunus lundelliana Standl. (Rosaceae), an endangered tree with potential to restore cloud forests of Mesoamerica

Javier A. Rivas-Romero, Jacob J. Alvarez-Requena, Vinicio Bravo-Santizo 43

Effect of sulfonated block copolymer on the equilibrium and thermal properties of sulfonated fluoro-block copolymer blend membrane

Efecto del copolímero en bloque sulfonado sobre las propiedades térmicas y de equilibrio de una membrana sulfonada mezclada con un fluoropolímero en bloque

Edward M. A. Guerrero-Gutiérrez 57

Simulación de temperatura y precipitación estacional durante el período 1998-2000 en Centro América utilizando el modelo climático regional RegCM

Simulation of seasonal temperature and precipitation during the period 1998-2000 in Central America using the regional climate model RegCM

Paris Rivera1, Wener Ochoa, Bayron Gonzalez 67

Respuesta inmunológica a varias proteínas del *H. pylori* en pacientes guatemaltecos

Immune response to various H. pylori proteins in Guatemalan patients

Glenda B. Tello, Vanesa I. Wannan, Andrea M. Duarte, Walter O. Guerra, Isabel E. Guerra, Ana C. Ortiz, Alfonso Zetina, Jorge Gómez, Jorge L. De León, Karla J. Lange, Vivian L. Matta 82

Artículo de Revisión / Review Article

Diseño, estandarización e implementación de una nueva técnica en Guatemala, para el diagnóstico rápido de hemocultivos positivos, utilizando la tecnología Maldi-tof

Design, standardization and implementation of a new technique in Guatemala, for the rapid diagnosis of positive blood cultures, using Maldi-tof technology

Juan C. Barrera-Toledo, Sergio Melgar, Edith Oregón 93

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Contenido / Contents

Susceptibilidad genética y enfermedad autoinmune reumática: Revisión narrativa

Genetic susceptibility and autoimmune rheumatic disease: Narrative review

Maynor Herrera-Méndez 104

Reporte de Casos / Case Report

Encuesta entomológica y caracterización de las viviendas con el vector de la enfermedad de Chagas, en aldea Chuchuapa, Santa Rosa, Guatemala

Entomological survey and characterization of houses with the vector of Chagas disease, in Chuchuapa village, Santa Rosa, Guatemala

David A. Girón, Jimmy Saucedo, Juan Ordoñez, María Villagrán, Ángel Ojeda, María Merlos, Silvia Castro 118

Instrucciones para autores

Instructions for authors..... 126

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Editorial / Editorial

El papel de Open Journal System en el proceso editorial

El proceso editorial de una revista científica, cuenta con varias etapas que aglutinan a actores diversos en cada una de ellas. La realización de estas etapas sin apoyo de un software especializado hace que el proceso editorial se vuelva lento e ineficiente. La Revista Centroamericana de Investigación y Postgrado *Ciencia, Tecnología y Salud* ha tenido la oportunidad de utilizar desde sus inicios un software para esto. *Open Journal System* (OJS), desarrollado y actualizado por el *Public Knowledge Project* (PKP) de la universidades de Vancouver, British Columbia y Simon Fraser. OJS, como se conoce en latinoamerica, es un software libre diseñado para mejorar la calidad y divulgación del contenido científico y mantenerlo en formato abierto desde el 2002, y en estos momentos, el software más utilizado para realizar las publicaciones abiertas de revisión por pares en el mundo (Alperin et al., 2016).

OJS ha pasado por varias versiones y actualmente se encuentra en la 3.0. Como revista que fomenta el acceso abierto y la calidad de la gestión editorial fomentamos el uso de OJS, aunque el proceso de mantenimiento y actualización, nos ha representado dificultades y complejidades. Luego de casi un año y seis meses de no poder utilizar la plataforma, en el número 8,1 contamos con la actualización de la plataforma a su versión 3.0, lo que acompaña a varias mejoras, una ellas, de las más importantes, es contar con doi (número de identificación digital). El doi es uno de los estándares más importantes para los documentos científicos, porque permite la preservación digital de la información y la posibilidad de que los lectores y usuarios de

la información siempre tenga acceso al material. La incorporación del doi por medio de *Crossref* también ha permitido tener acceso a Turnitin, el software antiplagio más reconocido en el ámbito académico. Otra ventaja del doi es contar dentro de OJS con módulos especializados para medir el impacto de los artículos por medio de métricas alternativas (Plum analytics) que vincula el artículo con las lecturas en Mendeley y otras redes sociales. Otra de las mejoras considerables es la oportunidad de compartir documentos complementarios en la publicación. En estos momentos podemos publicar información de datos, código y otros archivos complementarios en beneficio de los lectores y nuestros usuarios. Aunque en calidad hemos avanzado como revista, seguir con el proceso de búsqueda de pares de alto nivel, apoyo y seguimiento en la publicación para autores sin experiencia previa, seguimiento constante, reconocemos que el tiempo sin OJS, conlleva atrasos substanciales en los procesos editoriales.

El cambio de versión a 3.0 implica un cambio estructural en cómo se han trabajado los procesos editoriales con la versión 2.0. Como usuario de la plataforma desde el 2014, divide el proceso en dos secciones (flujo de trabajo y publicación), en comparación con las dos secciones anteriores (revisión y edición). En esta nueva versión, a diferencia de la anterior, permite optimizar el seguimiento del flujo de trabajo, ya que se divide en cuatro: envío, revisión, editorial y producción, dejando la publicación para controlar de mejor manera los metadatos de cada artículo. La sección de envío permite controlar los manuscritos previo a pares. Todas aquellas revisiones que se realizan para mejorar la estructura y calidad de los manuscritos previo a pares se hacen desde esa sección. La sección de revisión, esta destinada para la revisión por pares permitiendo el reenvío de manera sencilla e intuitiva a varias rondas

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

Editorial / Editorial

de revisión. La sección editorial, a su vez permite todo el proceso previo a maquetación, revisión de citación y referencias, revisión de redacción, revisión de gráficas, tablas y dejar listo el material para la producción. La sección de producción es la sección para preparar los distintos formatos de salida: PDF, HTML, XML, para finalizar el proceso con la etapa de publicación. Como usuario y editora de revistas científicas, encuentro esta nueva versión fascinante, intuitiva y de fácil aprendizaje. Con esta nueva versión de OJS esperamos aumentar aún más la visibilidad de la revista, mejorar los tiempos de publicación y buscar indizaciones con mayor impacto para la ciencia centroamericana.

Andrea Rodas
Editora ejecutiva CTS

Referencia

Alperin, J. P., Stranak, K., & Garnet, A. (2016, 14-16 de septiembre). *On the Peripheries of Scholarly Infrastructure: A Look at the Journals Using Open Journal System* [Conference presentation]. Proceedings of the 21st International Conference on Science and Technology Indicators, València, Spain. <http://ocs.editorial.upv.es/index.php/STI2016/STI2016/paper/viewFile/4543/2337>

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

In memoriam

Enio Boanerges Cano Dávila (1964-2021)



Enio Cano nace en la ciudad de Guatemala el 1 de diciembre de 1964, siendo el primero de seis hermanos. Sus primeros años los vivió en Taxisco, Santa Rosa. Regresa a la capital a los 7 años de edad, donde cursa la educación primaria y secundaria en la escuela e instituto Primero de Julio, ubicados en la colonia del mismo nombre.

Mientras estudiaba la escuela primaria, jugó fútbol y participó en el grupo de Scouts, una de las actividades que más le apasionaron, por el contacto con la naturaleza. A la edad de 12 años, empezó a jugar beisbol, como receptor, en el Diamante Enrique “Trapo” Torrebiarte.

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

In memoriam

Luego, estudió en el Instituto Nacional Central para Varones, donde se graduó de bachiller en ciencias y letras en 1982. Desde la primaria, siempre fue muy buen estudiante y durante varios años obtuvo becas estudiantiles, incluso en la Universidad de San Carlos de Guatemala (Usac), donde entró a estudiar a la Escuela de Biología en 1983 y se graduó en 1990.

Como estudiante universitario fue ayudante de cátedra en varios cursos y también fue uno de los cofundadores de la Organización de Estudiantes de Biología.

Enio también fue un apasionado de la música. En los años 80 ingresó a la Escuela de Música de Proyección Folklórica Latinoamericana (Emprofola), donde perfeccionó su interpretación de la marimba y otros instrumentos tradicionales (tzijolaj y percusiones). Durante varios años, junto con otros colegas de Emprofola participó en varios conciertos, conocidos como peñas. Su interés por la marimba hizo que, junto con otros profesionales, desde 2007 a 2020 plantearan tres proyectos de investigación científico-comparativos sobre la marimba.

Se interesó en los insectos desde que era estudiante y gracias al entomólogo, Dr. Jack Schuster de la Universidad del Valle (UVG), desarrolló la pasión por estudiar a los escarabajos pasálidos. De 1992 a 2018, fue curador de la Colección de Artrópodos en la UVG, junto con el Dr. Schuster, con quien publicó varios artículos científicos y a quien consideró su mentor, colega y amigo, seguramente el más cercano de todos. Como taxónomo describió 32 nuevas especies de coleópteros para Mesoamérica (16 de la familia Passalidae y 16 de la familia Scarabaeidae).

En 1998, se graduó de la maestría en ciencias en Estudios Ambientales en la UVG y en 2016 obtuvo un doctorado en Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional Autónoma de México; los cuales obtuvo con

ayuda de un subsidio y una beca otorgada por la Usac, respectivamente.

En 2007, ingresó como profesor titular a la Escuela de Biología de la Usac, donde colaboró grandemente en el trabajo curatorial de su Colección Entomológica.

En ambas universidades fue un destacado docente, impartiendo cursos de: Biogeografía, Biología General, Biometría, Ecología Estadística, Entomología, Entomología Forestal, Entomología Sistemática, Estadística Ecológica, Evolución, Historia del Pensamiento Evolutivo, Investigación Aplicada I y II, Principios de Geología y Paleontología, Sistemática y Taxonomía.

Su ardua y constante labor estudiando y conservando la entomofauna mesoamericana, así como su disposición desinteresada a colaborar y facilitar el trabajo de otros investigadores, fue reconocida por varios entomólogos, quienes nombraron varias especies en su honor: *Phyllophaga canoana* Morón, 2003; *Villala canoi* Goemans, 2005; *Stenocrates eniocanoi* Ratcliffe & Cave, 2013; *Pararhcnoderma eniocanoi* Cadena-Castañeda & Monzón-Sierra, 2014; *Plumolepius canoi* Barrios-Izás & Anderson, 2016; *Passalus canoi* Jiménez-Ferbans, Reyes-Castillo & Schuster, 2019; *Macroductylus eniocanoi* Arce-Pérez & Morón 2020; *Epectinaspis canoi* Ramírez-Ponce, Delgado & Soto, 2021; *Dichotomius enioi* Montoya-Molina & Vaz-De, 2021.

Además, Enio fue un reconocido asesor y revisor de tesis, revisor de artículos, y publicó más de 36 artículos científicos. Por otro lado, fue el editor de los dos volúmenes de los libros Biodiversidad de Guatemala (2006 y 2012), valiosas obras que actualizaron la información biológica del país, para lo cual contó con el apoyo de más de 50 investigadores que escribieron distintos capítulos.

Asimismo, sobresale su participación como coautor del libro *The Dynastine Scarab Beetles of Mexico*,

Ciencia, Tecnología y Salud

ISSN: 2410-6356 (impreso) / 2409-3459 (electrónico)

Vol. 8 Num. 1 ene/jun 2021

In memoriam

Guatemala, and Belize (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) de 2013 y del libro *Insectos de Guatemala: Guía de Identificación* con dos ediciones (2015 y 2018).

Paralelo a su vida profesional, desde el 2013 jugó softbol en el equipo Rockies, en los campos de la Confederación Deportiva Autónoma de Guatemala (CDAG) en la zona 15 capitalina y por su buen desempeño en el torneo 2018-2019, recibió la medalla de oro por ser el mejor receptor.

El martes 23 de marzo de 2021, falleció Enio Cano Dávila, a sus 57 años por causas naturales, dejando un legado valioso para la biodiversidad de Guatemala. Previo a su deceso estaba trabajando con el Dr. Schuster, en la descripción de nuevas especies

de ronrones de mayo (Phyllophaga) y otros pasálidos. Además, estaba digitalizando la colección de entomología de la Usac.

Enio era un hombre íntegro y noble, con un particular sentido del humor, dedicado papá, fiel y cariñoso amigo, colega, destacado investigador, docente, ameno y calificado conferencista, experto en el estudio de coleópteros y otros grupos de seres vivos; su partida deja un gran vacío en la ciencia mesoamericana.

Magaly Arrecis, Carolina Rosales de Zea
y Javier Rivas Romero
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala

Inhibición de las actividades proteolítica y fosfolipasa A₂ del veneno de *Bothrops asper* por el extracto etanólico de *Neurolaena lobata* (L.) Cass.

Inhibition of proteolytic and phospholipase A₂ activities of Bothrops asper venom by the ethanolic extract of Neurolaena lobata (L.) Cass.

Patricia Saravia-Otten^{1*}, Rosario Hernández¹, Nereida Marroquín², Gabriela García¹, Federico Nave³, Lorena Rochac², Vicente Genovez¹, Max Mérida², Sully M. Cruz², Armando Cáceres², José M. Gutiérrez⁴

¹Departamento de Bioquímica, ²Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (Lipronat), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, ³Dirección General de Investigación (Digi), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. ⁴Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica

*Autor al que se dirige la correspondencia: psaravia02@gmail.com

Recibido: 30 de enero 2020 / Revisión: 11 de febrero 2020 / Aceptado: 14 de enero 2021

Resumen

Neurolaena lobata es utilizada tradicionalmente en Centroamérica para tratar la mordedura de serpiente, pero su efectividad para contrarrestar el envenenamiento producido por *Bothrops asper* ha sido poco estudiada. Se evaluó la capacidad del extracto etanólico de sus hojas para inhibir las actividades proteolítica, fosfolipasa A₂ (PLA₂; evaluada como hemólisis indirecta) y coagulante del veneno in vitro. El material vegetal fue colectado en Izabal, Guatemala, secado, se hicieron extracciones con etanol y se evaluó la presencia de actividades proteolítica, PLA₂ y coagulante intrínsecas en ensayos de concentración-actividad. Los efectos inhibitorios de la actividad proteolítica y PLA₂ del veneno se evaluaron después de pre-incubar concentraciones variables del extracto con concentraciones fijas de veneno. La inhibición de la actividad coagulante del veneno no fue evaluada porque el extracto presentó actividad anticoagulante intrínseca dependiente de la concentración. El extracto inhibió completamente las actividades proteolítica (CE₅₀ = 15.7 µg/µl) y PLA₂ (CE₅₀ = 32.5 µg/µl) del veneno. El análisis fitoquímico utilizando ensayos macro y semimicrométricos de cromatografía en capa fina, demostró la presencia de flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos, sesquiterpenlactonas y aceites esenciales en el extracto. Su efecto sobre las proteínas del veneno se evaluó por electroforesis SDS-PAGE, mostrando cambios en el patrón electroforético atribuidos a la formación de complejos moleculares con los metabolitos del extracto. Los resultados indican que el extracto podría inhibir los efectos tóxicos del veneno inducidos por las metaloproteinasas dependientes de zinc (SVMPs) y PLA₂s, pero podría afectar las alteraciones en la coagulación, coadyuvando en la desfibrinogénesis inducida por el veneno.

Palabras claves: Guatemala, efecto coagulante, envenenamiento ofídico, metabolitos especializados, antídoto

Abstract

Neurolaena lobata has been used by traditional healers in Central America to treat snakebite, but its ability to neutralize *Bothrops asper* envenomations needs to be proved. This study evaluated the inhibitory potential of the ethanolic extract of the leaves of *N. lobata* against proteolytic, phospholipase A₂ (PLA₂) and coagulant activities of the venom in vitro. Leaves were collected in Izabal, Guatemala, dried, extracted with ethanol and concentration-response assays were conducted to detect intrinsic proteolytic, PLA₂ (evaluated as indirect hemolysis) and coagulant activities. Assays for anti-proteolytic and anti-PLA₂ activities were performed after pre-incubation of several amounts of extract with a fixed concentration of venom. Inhibition assay for the coagulant effect of the venom was not tested because pre-incubation of thrombin with the extract prolonged the clotting time of plasma in a concentration-dependent manner. Proteolytic (EC₅₀ = 15.7 µg/µl) and PLA₂ (EC₅₀ = 32.5 µg/µl) activities of the venom resulted completely inhibited by the extract. Phytochemical profiles, determined by micrometric assays and semi microanalysis by thin layer chromatography, showed the presence of flavonoids, coumarins, saponins, tannins, sesquiterpene lactones and essential oils in the extract. SDS-PAGE was used to assess the action of the extract on the venom proteins. Results showed changes in the electrophoretic profile, probably due to the formation of insoluble complexes with plant specialized metabolites. These findings demonstrated that the extract could be able to inhibit toxic effects triggered by zinc-dependent snake venom metalloproteinases (SVMPs) and PLA₂s but might aggravate the alterations induced by the venom in coagulation.

Keywords: Guatemala, coagulant effect, antidote, specialized metabolites, snakebite



Introducción

El envenenamiento ofídico es un problema de salud pública importante a nivel mundial y una de las 20 enfermedades desatendidas determinadas como prioritarias por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2017). En la región centroamericana ocurren alrededor de 5,500 casos anuales, pero el número de accidentes ofídicos podría ser mucho mayor, ya que no se registran los casos que no son tratados en los centros de salud (Chippaux, 2017; Gutiérrez, 2014). La mayoría de los accidentes ofídicos son producidos por la mordedura de la serpiente *Bothrops asper* (barba amarilla, terciopelo o equis). El envenenamiento se caracteriza por producir daño tisular prominente en el sitio de la mordedura, con manifestaciones que incluyen edema, hemorragia y necrosis de tejidos blandos. En casos más graves se producen manifestaciones sistémicas, caracterizadas principalmente por sangrado, coagulopatía, daño renal y choque cardiovascular. En algunos casos, el envenenamiento produce secuelas físicas a largo plazo, como desfiguración o amputación (Gutiérrez, Escalante et al., 2009; Gutiérrez, Rucavado et al., 2009). Estos efectos son el resultado de la acción de los componentes del veneno, principalmente las metaloproteinasas dependientes de zinc (SVMPs), fosfolipasas A₂ (PLA₂s) y serina proteinasas (SVSPs) (Angulo & Lomonte, 2009).

El único tratamiento validado para contrarrestar el envenenamiento es la administración intravenosa de antivenenos, los cuales son efectivos para neutralizar los efectos sistémicos, pero no tanto para contrarrestar el daño local, el cual aparece muy pronto después de la mordedura y es irreversible, a menos que se trate a tiempo el caso (Felix-Silva et al., 2017). El uso de antivenenos presenta serias limitaciones en las regiones rurales en donde ocurre la mayor parte de los accidentes ofídicos, debido a que el acceso a los centros de atención médica es difícil y la disponibilidad de antivenenos puede ser escasa. Por esta razón, muchos de los envenenamientos ofídicos en la región centroamericana son tratados por curanderos tradicionales con antídotos preparados con plantas medicinales nativas, según prácticas ancestrales (Coe & Anderson, 2005; Giovannini & Howes, 2017).

En la actualidad, la búsqueda de antídotos preparados con plantas se ha enfocado en la identificación de plantas de uso etnomédico que contrarresten eficazmente la acción de los componentes del veneno que producen daño local, tales como las PLA₂s y

SVMPs del veneno de *B. asper*, ya que proporcionaría a la población afectada una alternativa terapéutica complementaria que podrían administrarse en el sitio en donde ocurre el accidente, lograría disminuir las secuelas del envenenamiento (Félix-Silva et al., 2017) y permitiría que los afectados pudieran trasladarse a tiempo a un centro de atención hospitalaria para recibir el tratamiento con antiveneno para neutralizar los efectos sistémicos.

Existen al menos 208 especies vegetales en la región centroamericana que se utilizan para este propósito, siendo los géneros *Piper*, *Aristolochia*, *Hamelia*, *Ipomoea*, *Passiflora* y *Peperomia* los más frecuentemente reportados, aunque aún es necesario realizar estudios clínicos que validen científicamente su efectividad terapéutica (Giovannini & Howes, 2017). *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass, (Astereaceae) (tres puntas, mano de lagarto, gavilana) es una de las plantas de uso tradicional para tratar la mordedura de serpiente en Centroamérica y Colombia (Giovannini & Howes, 2017; Otero, Fonnegra et al., 2000; Saravia et al., 2001). Es una planta encontrada en Centroamérica, sur de México, el Caribe (Turner, 1982), así como en la región oeste de Colombia (Otero, Fonnegra et al., 2000) y región norte de Brasil (Gracioso et al., 1998). Diversos estudios reportan que extractos y fracciones orgánicas de esta planta tienen propiedades antiulcerosas (Gracioso et al., 2000), antimicrobianas (Lentz et al., 1998), antinociceptivas (Gracioso et al., 1998) y antiinflamatorias (McKinnon et al., 2014; Walshe-Roussel et al., 2013). Estas propiedades podrían explicar su uso tradicional como antiofídico, ya que podrían contrarrestar los efectos locales del envenenamiento. Además, también podría favorecer la posterior cicatrización en el sitio de la mordedura, ya que el estudio realizado por Nayak y colaboradores (2014) reportó que la administración tópica del extracto etanólico de las hojas *N. lobata* promovió la cicatrización cutánea exitosa en un modelo animal, lo cual se atribuyó a la capacidad de los taninos y saponinas de la planta para contrarrestar la hemorragia, detener el crecimiento de bacterias y acelerar el proceso de cicatrización.

Existen pocos estudios que validen la capacidad de *N. lobata* para neutralizar los efectos del envenenamiento por mordedura de las serpientes del género *Bothrops*. En el estudio realizado por Castro y colaboradores (1999) en Costa Rica, el extracto etanólico de *N. lobata* no mostró efecto neutralizante del efecto hemorrágico del veneno de *B. asper* en ratones, mientras que en Colombia el extracto etanólico logró una inhibición parcial (44%) de dicho efecto del veneno de

B. atrox (Otero, Núñez et al., 2000). En el estudio realizado por Saravia y colaboradores (2001), se reportó que en el norte de Guatemala se utilizan las hojas de la planta para tratar el envenenamiento. Aunque no existe una receta en común en la preparación, modo de empleo y dosificación, se reportó la administración oral de una infusión preparada con las hojas, así como la aplicación sobre la mordedura de cataplasmas preparados con las hojas usadas para hacer la infusión, o bien, masticadas por el paciente junto con hojas de tabaco (Hay, 2002). Aunque en la evaluación preliminar de sus extractos acuoso y etanólico no se logró la neutralización de los principales efectos del veneno (Saravia et al., 2001), se encontró que potencialmente podría neutralizar el efecto hemorrágico local. Sin embargo, también se encontró que tenían actividades intrínsecas que afectaban la hemostasia.

Dada la importancia clínica de estos hallazgos y considerando los múltiples usos tradicionales de *N. lobata* en la región, en este estudio se dio continuidad a la evaluación de la eficacia del extracto etanólico de sus hojas para inhibir las actividades proteolítica, PLA₂ y procoagulantes del veneno de *B. asper*, para los cuales se preincubaron mezclas que contenían veneno y extracto. Se identificaron los principales metabolitos especializados presentes en la composición química del

extracto y se evaluó su acción sobre las proteínas del veneno mediante electroforesis SDS-PAGE.

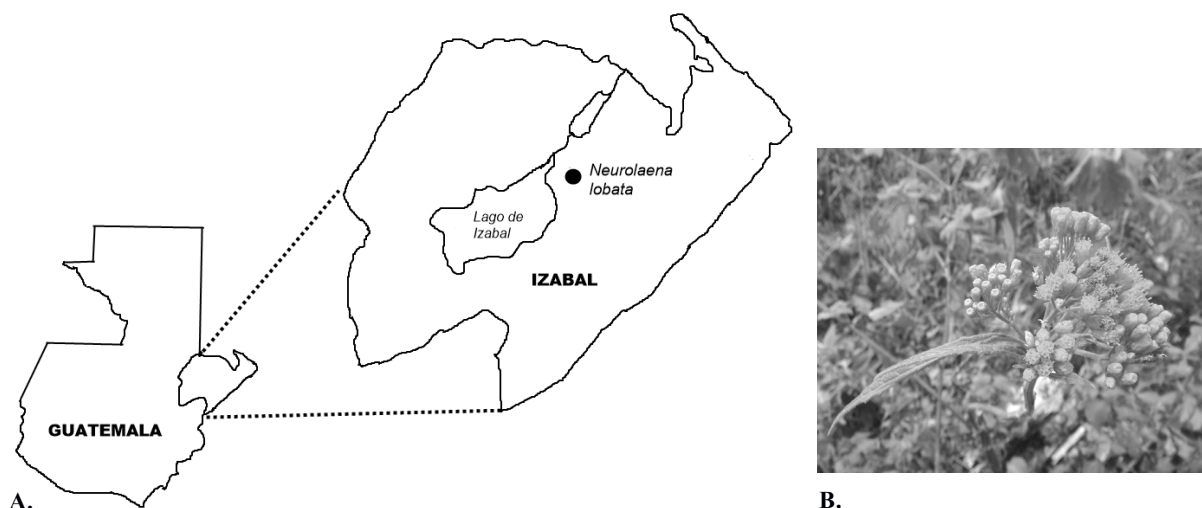
Materiales y Metodos

Colecta del material vegetal

La colecta se realizó con base en un muestreo estratificado, preferencial y por conveniencia en el departamento de Izabal, Guatemala (Carretera entre la Ruidosa y Río Dulce, Livingston, Izabal. N 15° 35' 32.7" O 088° 55' 48.9") a 50 m s.n.m., según se muestra en el mapa de colecta elaborado por el Br. Balmore Valladares (Figura 1). Las hojas se colectaron de poblaciones silvestres que crecen espontáneamente en los matorrales y bosques cercanos a las viviendas de las comunidades visitadas. La recolección, embalaje y transporte se realizó conforme a los principios de las buenas prácticas de colecta y el proceso conforme a las técnicas convencionales de secado y molienda. Se depositó una muestra en el Herbario CFEH (*Cemat Farmaya Ethnobotanical Herbarium*) del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya y se le asignó el número de registro CFEH 1,389.

Figura 1

Mapa de colecta de *Neurolaena lobata* (L.) Cass



Nota. A. Mapa de la ubicación de colecta de las hojas de *Neurolaena lobata* (L.) Cass. en el departamento de Izabal. B. Individuo de *N. lobata* (Tres puntas) en etapa de floración en el departamento de Izabal (Fotografía tomada por Max Mérida).

Preparación de extractos vegetales

El extracto etanólico de las hojas se obtuvo por percolación según la metodología descrita previamente (Saravia-Otten et al., 2017). Se pesaron 300 g del material vegetal seco, se agregó etanol al 50% y se percoló durante 24 h con recambios del disolvente. Los menstros extraídos se concentraron en rotavapor y los extractos concentrados se llevaron a sequedad en un desecador con sílica. El extracto seco se pesó y se determinó que el porcentaje de rendimiento fue del 35.8%.

Veneno de *B. asper*

Se utilizó una mezcla de veneno colectado en el serpentario del Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica, el cual fue obtenido a partir de no menos de 40 especímenes adultos provenientes de la región del Pacífico de Costa Rica. La mezcla de veneno fue centrifugada, liofilizada y almacenada a -20 °C hasta su uso.

Diseño experimental de los bioensayos

Para cada una de las actividades estudiadas, antes de enfrentar el veneno con el extracto vegetal se evaluó la presencia de dichas actividades intrínsecas en los extractos de la planta, a las concentraciones contenidas en las proporciones veneno:extracto (p:p) definidas para cada ensayo. Para ello se efectuó un estudio de la relación concentración-actividad como se describió previamente (Saravia-Otten et al., 2017). Para las pruebas de actividad hemolítica indirecta intrínseca de la planta, se evaluaron concentraciones del extracto de 6-96 µg/µl, para la actividad proteolítica intrínseca las concentraciones fueron de 3.9-62.5 µg/µl, para la actividad coagulante y anticoagulante intrínseca se analizaron concentraciones de 0.053-50 µg/µl. La presencia de actividades intrínsecas en el extracto vegetal, invalidarían los resultados de las pruebas de inhibición.

Para los ensayos de inhibición se utilizó el ensayo de preincubación, el cual consiste en incubar controles y mezclas conteniendo la concentración reto (CR) del veneno con concentraciones variables del extracto a 37 °C por 30 min, al cabo de los cuales se estudió la actividad inhibitoria de cada efecto, empleando los mismos métodos utilizados en los estudios de la relación concentración-actividad. La capacidad inhibitoria se expresó en términos porcentuales, en donde el 100%

correspondió a la inhibición total del efecto evaluado y el 0% a un efecto de igual magnitud al inducido por el veneno solo. La potencia del extracto se expresó como la concentración efectiva media (CE_{50}), definida como la concentración del extracto capaz de inhibir el 50% del efecto estudiado.

Actividad PLA_2

La actividad enzimática PLA_2 se midió por el ensayo de hemólisis indirecta, utilizando el método agarosa-yema de huevo-eritrocitos como se describe en Gutiérrez y colaboradores (1988). La CR consistió en una dosis hemolítica indirecta mínima (HDmI), definida como la cantidad de veneno (0.24 µg/µl) que indujo un halo hemolítico de 20 mm de diámetro, después de 20 h de incubación. Los ensayos de inhibición se realizaron enfrentando la CR de veneno al extracto en mezclas que contenían veneno:extracto (p:p) en proporciones de 1:25 hasta 1:400. Como controles negativos se utilizaron PBS solo para el veneno y DMSO en PBS (5% v/v) para el extracto. Como control positivo se usó la CR de veneno. Mezclas y controles se incubaron por 30 min a 37 °C, posteriormente se colocaron 15 µl de cada una de las muestras en los pozos del gel de agarosa-yema de huevo-eritrocitos, se incubaron a 37 °C por 20 h, después de las cuales se midieron los halos de hemólisis. La actividad hemolítica indirecta se expresó como porcentaje, tomando como 100% el diámetro del halo hemolítico del pozo que contenía el control positivo y 0% el del pozo que contenía el control negativo.

Actividad proteolítica

La actividad proteolítica sobre azocaseína se evaluó según el método de Wang y colaboradores (2004) con las modificaciones descritas en Saravia-Otten y colaboradores (2017). La cantidad de productos de degradación del sustrato se determinó midiendo la absorbancia del sobrenadante a 450 nm luego de la precipitación de la mezcla con ácido tricloroacético. Como control positivo se utilizó la CR de veneno (1.25 µg/µl), mientras que el control negativo contenía PBS pH 7.2. Para las pruebas de inhibición se prepararon mezclas que contenían CR de veneno:extracto (p:p) en proporciones de 1:3.125 hasta 1:50. La interferencia del color del extracto etanólico contenido en cada mezcla se eliminó con un control interno, el cual contenía la solución tampón de trabajo sin azocaseína y la con-

centración correspondiente del extracto. La actividad proteolítica se calculó restando al valor de absorbancia de cada mezcla analizada, la absorbancia de su control interno, y se expresó en porcentaje, tomando como el 100% la actividad del control positivo, la cual se determinó restando la absorbancia del control negativo (PBS; 0% de actividad) al valor de absorbancia del tubo que contenía la CR de veneno.

Actividad coagulante y anticoagulante

La actividad coagulante intrínseca se evaluó utilizando plasma humano citratado según el método de Theakston y Reid (1983). Como control negativo (0% de actividad) se utilizó PBS y el control positivo fue una solución de trombina (2.7 UNIH/ml), según instrucciones del fabricante (Wiener Lab.). La actividad anticoagulante intrínseca (antitrombina) se evaluó incubando una concentración fija de trombina con concentraciones variables del extracto. Como control de coagulación se utilizó la solución de trombina incubada con PBS y como control de no coagulación se usó solo PBS. En ambas pruebas se reportaron como anticoagulantes aquellas concentraciones de extracto que no presentaron formación de un coágulo evidente luego de 60 min de incubación una vez que se agregó la mezcla conteniendo trombina. Para los ensayos de inhibición del efecto coagulante del veneno, la CR (0.00215 µg/µl) se enfrentaría al extracto a razón veneno:extracto (p:p) de 1:400 hasta 1:25, utilizando como positivo la CR de veneno (100% de actividad) y PBS como control negativo (0% de actividad).

Análisis por electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

El análisis SDS-PAGE se realizó en geles de poliacrilamida al 12.5% (Laemmli, 1970). Se prepararon soluciones conteniendo veneno solo como control y mezclas que contenían veneno y extracto etanólico en proporciones desde 1:2.5 hasta 1:20 (veneno:extracto, p:p) y se incubaron a 37 °C por 30 min. Posteriormente se filtraron utilizando una membrana de 0.22 µm (DynaGard, Microgon), se hirvieron por 10 min y se cargaron 10 µl de cada mezcla en el gel, conteniendo 30 µg de veneno. La electroforesis se corrió en condiciones reductoras a 150 V por 1 h. Las proteínas se tiñeron con azul brillante de Coomassie. El patrón electroforético del veneno se comparó frente al patrón de las mezclas veneno:extracto, utilizando como marcador

de peso molecular el *BenchMark Pre-Stained protein Ladder* (Life Technologies).

Análisis fitoquímico del extracto vegetal

Se determinó la presencia de taninos mediante la técnica macrométrica de tubos descrita por Kuklinski (2000). La presencia de flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, aceites esenciales, cumarinas, sesquiterpenlactonas y saponinas se determinaron por cromatografía en capa fina según lo descrito en Lock (1994), Ministerio de Sanidad y Consumo y colaboradores (2002), Wagner y Bladt (1996, 2001). Los estándares fueron quercetina, rutina, ácido clorogénico e hiperósido para flavonoides; rojo de Sudán para antocianinas; estándar de catequinas; atropina, papaverina y piperina para alcaloides; limoneno, eugenol, timol, mentol, anetol y eucaliptol para aceites esenciales; umbeliferona, ácido *p*-cumárico, cumarina y extracto de canela para cumarinas; saponina al 0.1% para saponinas y artemisinina al 0.1% para sesquiterpenlactonas.

Diseño y análisis estadístico

Para la determinación de actividades del extracto vegetal se realizó un diseño de bloques completos no aleatorizados. Los tratamientos correspondieron a las concentraciones de extracto evaluadas en las pruebas de actividad intrínseca y a las relaciones veneno: extracto en las pruebas de inhibición. Los ensayos se realizaron en tres días diferentes (bloques), con cinco réplicas por ensayo por conveniencia, para un total de 15 lecturas. Los resultados de las actividades proteolítica y PLA₂ intrínsecas se evaluaron por un análisis de varianza de dos vías de cada tratamiento frente al control negativo, con un nivel de significancia de .05. Para todos los análisis de varianza se calculó además el tamaño del efecto por medio del índice eta parcial al cuadrado (η_p^2). Cuando el análisis de varianza demostró que existían diferencias significativas, se realizó la prueba de comparaciones de Dunnett de cada tratamiento frente al control negativo. Los resultados de la actividad coagulante intrínseca se evaluaron por la prueba de hipótesis binomial y los de la actividad anticoagulante intrínseca por un análisis de regresión lineal, ambos con un nivel de significancia de .05. El análisis de las pruebas de inhibición de los efectos proteolíticos y PLA₂ del veneno se realizó mediante un análisis de regresión de la curva concentración-actividad para determinar el mejor modelo de ajuste,

con un nivel de significancia de .05. Con base en este modelo, se calculó para cada extracto la CE_{50} con un intervalo de confianza del 95%. Para determinar los cambios producidos en el perfil electroforético del veneno en presencia del extracto vegetal, se realizó un análisis descriptivo de las bandas proteicas de las mezclas veneno:extracto en comparación con las del veneno solo. El análisis fitoquímico fue descriptivo, reportándose la presencia o ausencia de los metabolitos especializados evidenciados.

Resultados

Actividad PLA_2

Se determinó que el extracto no posee actividad PLA_2 intrínseca a las concentraciones evaluadas (6-96 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) mediante el ensayo de hemólisis indirecta (datos no mostrados). El análisis de la capacidad inhibitoria del efecto PLA_2 del veneno se realizó preparando mezclas con razones CR:extracto de 1:25 a 1:400 (p:p). Los resultados mostraron que el extracto tenía un efecto inhibitorio de la actividad del veneno a todas las concentraciones evaluadas ($p < .001$), con un valor de η_p^2 de 1.00. El extracto logró contrarrestar el 100% de la actividad del control de veneno cuando éste se enfrentó a la proporción más alta (1:400, que corresponde a 96 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), demostrando actividades inhibitorias $\geq 50\%$ cuando se utilizó en proporciones 1:200 y 1:100 (p:p) (Tabla 1). Como se muestra en la misma tabla, se requirieron 32.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ IC 95% [28.7, 36.8] del extracto para alcanzar la CE_{50} .

Actividad proteolítica

La evaluación del extracto etanólico demostró que no posee actividad proteolítica intrínseca a las concentraciones utilizadas (3.9-62.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) (datos no mostrados). Se encontró actividad inhibitoria significativa ($p < .001$) del efecto proteolítico del veneno en el extracto etanólico cuando se evaluó en las relaciones CR:veneno de 1:3.125-1:25 (p:p), ya que la relación 1:50 (que contenía 62.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ del extracto) no pudo ser analizada debido a que superó los límites de precisión de la lectura espectrofotométrica. La relación 1:25 (p:p) logró la inhibición del 100% del efecto proteolítico del veneno, mientras que la relación 1:12.5 inhibió aproximadamente el 50% (Tabla 1). El análisis de varianza mostró que el valor de η_p^2 de la prueba fue de .99. La potencia del extracto se muestra en la misma tabla,

ya que se determinó que se requieren 15.7 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ IC 95% [14.8, 16.5] del extracto para inhibir el 50% de la actividad proteolítica del veneno.

Actividad coagulante y anticoagulante

Ninguna de las concentraciones evaluadas del extracto vegetal (0.053-50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) demostró poseer actividad coagulante intrínseca a las concentraciones del estudio (datos no mostrados). Sin embargo, la evaluación de la actividad anticoagulante intrínseca (antitrombina), mostró que inducía la prolongación del tiempo de coagulación de forma dependiente de la concentración (Figura 2), por lo cual, aunque el plasma coaguló antes de los 60 min, las pruebas de inhibición del efecto coagulante del veneno no se realizaron, ya que los resultados serían difíciles de interpretar debido a esta actividad antitrombina intrínseca del extracto.

Análisis por electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

El análisis por electroforesis SDS-PAGE de veneno y mezclas mostró que el extracto de *N. lobata* induce un cambio en el patrón de bandas de proteínas del veneno, principalmente en la mezcla que contenía veneno:extracto en relación 1:20 (Figura 3). Se observó la desaparición de las bandas de masas moleculares aproximadas de 39, 45 y 55 kDa. Además, se observó una disminución en la intensidad de las bandas de proteína con masa molecular aparente de 50 y 28 kDa. La banda de menor masa molecular (14 kDa aproximadamente) mostró una disminución en su intensidad en todas las muestras que contenían veneno y extracto, de manera concentración-dependiente. Así mismo, en las relaciones veneno:extracto más altas (1:10 y 1:20, p:p) se detectó la aparición de una banda de alto peso molecular (> 180 kDa) que no se observó en el control de veneno. No se detectaron bandas de proteínas en el extracto vegetal en las electroforesis realizadas.

Análisis fitoquímico

La determinación macro y semimicrométrica de metabolitos especializados del extracto etanólico demostró la presencia de flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos, sesquiterpenlactonas y aceites esenciales en su composición química. No se detectó la presencia de antocianinas, catequinas y alcaloides (Tabla 2).

Tabla 1

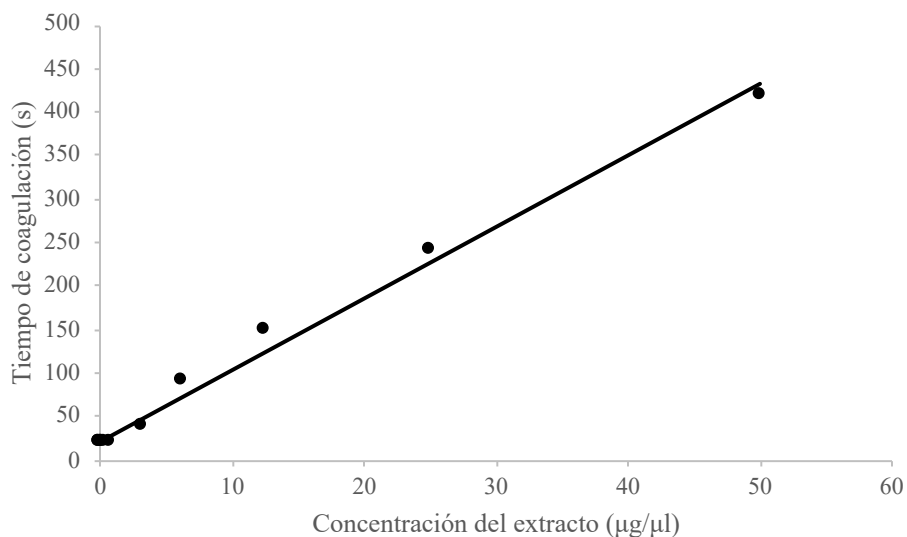
Inhibición de actividades enzimáticas del veneno de B. asper por el extracto etanólico de N. lobata

Actividad PLA ₂			Actividad proteolítica		
Razón veneno: extracto (p:p)	Inhibición % ^a	CE ₅₀ [IC 95 %] ^b	Razón veneno: extracto (p:p)	Inhibición % (DE) [IC 95 %] ^c	CE ₅₀ [IC 95 %] ^b
1:400	100	32.5 [28.7, 36.8]	1:50	ND ^d	15.7 [14.8, 16.5]
1:200	70		1:25	100 (5.3)	
1:100	50		1:12.5	49.3 (2.3) [48.1, 50.5]	
1:50	30		1:6.25	25.3 (2.1) [24.2, 26.3]	
1:25	20		1:3.125	10.3(2.8) [8.9, 11.7]	

Nota. ^aSe presenta solamente el promedio del porcentaje de inhibición de tres ensayos independientes realizados en quintuplicado (n = 15) ya que la desviación estándar es cero. ^bConcentración efectiva media expresada en µg de extracto/µl e intervalo de confianza del 95%. ^cSe presentan el promedio del porcentaje de inhibición (desviación estándar) de tres ensayos independientes realizados en quintuplicado (n = 15) y el intervalo de confianza del 95%. ^dNo determinada por sobrepasar el límite de detección del espectrofotómetro.

Figura 2

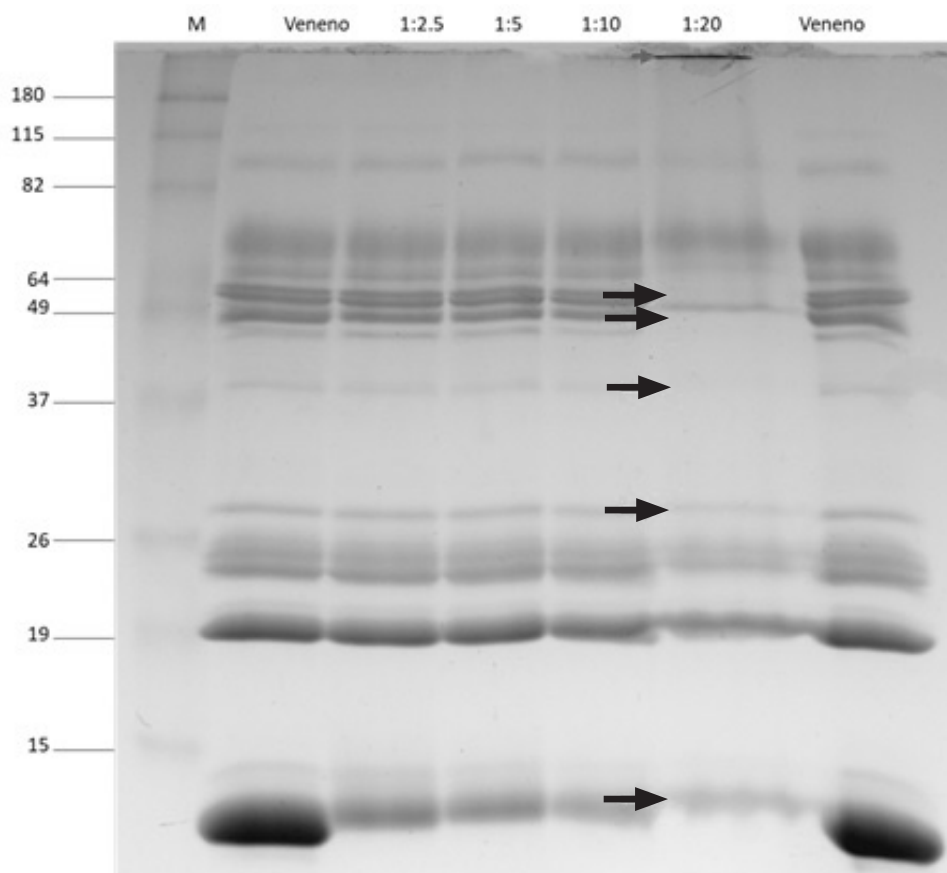
Actividad anticoagulante (antitrombina) intrínseca del extracto etanólico de N. lobata



Nota. La gráfica describe la actividad antitrombina intrínseca, dependiente de la dosis, del extracto etanólico de *N. lobata*. El comportamiento observado demuestra una relación lineal (r^2 0.991), entre la dosis de planta evaluada y el tiempo de coagulación del plasma (s); relación que es estadísticamente significativa ($p < .001$), considerando las concentraciones de extracto evaluadas (0.053 – 50 µg/µl).

Figura 3

Electroforesis SDS-PAGE del veneno de *B. asper* crudo y preincubado con el extracto etanólico de *N. lobata* en diferentes proporciones



Nota. Cambios en el patrón electroforético en SDS-PAGE (condiciones reductoras) del veneno de *B. asper* luego de la incubación con el extracto etanólico de *N. lobata*. El veneno se preincubó con el extracto en mezclas en proporciones veneno:extracto desde 1:2.5 hasta 1: 20 (p:p). Se cargaron 10 µl de cada mezcla en un gel de poliacrilamida al 12.5%, como control se cargó veneno solo. (M) Marcador de peso molecular. Las flechas señalan las bandas de proteína en donde se observan los principales cambios en comparación con el control de veneno.

Tabla 2

Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *N. lobata*

Metabolitos secundarios presentes	Metabolitos especializados no identificados ^a
Flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos, sesquiterpenlactonas, aceites esenciales.	Antocianinas, catequinas y alcaloides.

Nota. ^aMetabolitos especializados que no se detectaron en el extracto empleando las metodologías descritas en el estudio.

Discusión

El uso etnomédico de las hojas, tallo, ramas y partes aéreas de *N. lobata* para el tratamiento del envenenamiento producido por la mordedura de serpiente ha sido reportada previamente (Giovannini & Howes, 2017). En el norte de Guatemala se utilizan las hojas de la planta para la preparación de los antidotos (Hay, 2002), las cuales también se utilizan en la medicina tradicional en Belice para tratar afecciones inflamatorias (Walshe-Roussel et al., 2013) y en Trinidad Tobago como cicatrizantes (Nayak et al., 2014). Con el fin de evaluar la capacidad del extracto etanólico de las hojas para inhibir los efectos PLA₂, proteolítico y coagulante del veneno, en este estudio se modificaron las condiciones de extracción de los principios activos de la planta utilizados en un estudio preliminar (Saravia et al., 2001), ya que se ha demostrado que la actividad biológica resulta afectada por el método empleado para preparar los extractos vegetales (Santos et al., 2014).

Los resultados de este estudio demostraron que el extracto etanólico de las hojas de *N. lobata* inhiben completamente las actividades proteolítica y PLA₂ (evaluada como hemólisis indirecta) del veneno de *B. asper* en los ensayos de preincubación in vitro. Este hallazgo es importante, ya que estas actividades enzimáticas son producidas por las principales toxinas del veneno, SVMPs y PLA₂s (Asp 49), respectivamente (Angulo & Lomonte, 2009). La acción combinada de SVMPs y PLA₂s miotóxicas induce, en gran parte, el complejo cuadro clínico del envenenamiento por mordedura de *B. asper*, que se caracteriza por la rápida manifestación de patologías locales severas irreversibles (Gutiérrez, Rucavado et al., 2009). Así mismo, en los envenenamientos moderados y severos se induce la aparición de efectos sistémicos, producidos principalmente por la acción de las SVMPs tipo P-III, en combinación con la acción de serina proteinasas (SVSPs) y proteínas parecidas a las lectinas tipo C del veneno (Gutiérrez, Escalante et al., 2009).

Aunque la inhibición in vitro de la actividad proteolítica del veneno sobre azocaseína no es necesariamente indicativa de la capacidad de un extracto para neutralizar la hemorragia local en ratones (Gutiérrez et al., 2017), se han reportado estudios en donde los extractos de plantas que lograron la inhibición de la proteólisis in vitro también neutralizaron el efecto hemorrágico en animales (Patiño et al., 2013; Preciado et al., 2018), lo cual coincide con la observación de que la hidrólisis de azocaseína la efectúan sobre todo las

SVMPs. Estudios previos realizados en Costa Rica y Colombia (Castro et al., 1999; Otero, Núñez et al., 2000) reportaron que los especímenes de *N. lobata* colectados en dichos países no neutralizaron el efecto hemorrágico en ratones, sin embargo, debe tomarse en cuenta que generalmente las sustancias activas de las plantas se encuentran en muy pequeñas cantidades que pueden verse afectadas por múltiples factores, como la temporalidad de la colecta, clima, composición de la tierra o la parte de la planta a partir de la cual se hace la extracción (Mors et al., 2000). Por lo tanto, dado que el extracto etanólico de *N. lobata* colectada en Guatemala inhibió el 100% de la actividad proteolítica del veneno (CE₅₀ de 15.7 µg/µl), su capacidad antihemorrágica deberá reevaluarse in vivo con el fin de validar su uso para contrarrestar este importante efecto local del veneno.

Por otro lado, la inhibición in vitro de los efectos PLA₂ y procoagulantes del veneno de *B. asper* han demostrado tener una buena correlación con la neutralización de la letalidad en ratones, que es la prueba utilizada como estándar de oro en la evaluación preclínica de la eficacia de los antivenenos (Gutiérrez et al., 2017). En este estudio el extracto etanólico de *N. lobata* inhibió el 100% la actividad hemolítica indirecta del veneno (indicativa de su actividad PLA₂) con una CE₅₀ de 32.5 µg/µl, lo cual es indicativo de que podría neutralizar parte de los efectos locales del veneno, ya que se ha demostrado que los extractos crudos o fracciones orgánicas de varias plantas con actividad anti-PLA₂ también neutralizan parcialmente la miotoxicidad y efecto edematizante del veneno de serpientes de los géneros *Bothrops* y *Crotalus* en modelos animales (Pereañez et al., 2014; Posadas et al., 2019).

La actividad inhibitoria demostrada por el extracto puede ser explicada por la presencia de flavonoides, taninos, saponinas y cumarinas en la composición química de la planta, ya que la inhibición de las SVMPs y PLA₂s de las serpientes *Bothrops* por estos metabolitos ha sido ampliamente reportada (Carvalho et al., 2013; Santosh et al., 2013). Estos metabolitos especializados también han sido detectados en extractos que neutralizan el efecto hemorrágico del veneno (Castro et al., 1999; da Silva et al., 2007; Mourão de Moura et al., 2014).

La interacción de los polifenoles con proteínas que poseen iones metálicos como Zn²⁺ y Ca²⁺ produce la formación de complejos insolubles que precipitan (Patiño et al., 2012). Según esta noción, la actividad inhibitoria de las SVMPs se ha asociado principalmen-

te a la presencia de flavonoides, por su capacidad para quelar Zn^{+2} , esencial para que las metaloproteinasas ejerzan su acción enzimática (Parellada et al., 1998; Preciado et al., 2018). Otro mecanismo propuesto es la formación de puentes de hidrógeno cercanos al sitio activo, dando como resultado la inhibición de la actividad enzimática por bloqueo del sitio activo e interacción con el ión Zn^{+2} (Pithayanukul et al., 2009). De igual forma, las PLA₂s son enzimas cuya actividad depende del Ca^{+2} , por lo tanto, los compuestos fenólicos presentes en el extracto también podrían ser responsables de remover este ion (Lättig et al., 2007). En Colombia, el compuesto biflavonoide moreloflavona inhibió la actividad de una PLA₂ aislada de *Crotalus durissus cumanensis*, el mecanismo de inhibición propuesto sugiere que se produce un bloqueo de interacción enzima-sustrato mediante la formación de puentes de hidrógeno con la enzima en el sitio de unión del sustrato. Adicionalmente, se sugirió que podría producirse el desplazamiento del Ca^{+2} requerido para la catálisis (Pereañez et al., 2014). Se ha sugerido también que los compuestos químicos de los extractos vegetales son capaces de inhibir los efectos tóxicos de los venenos de serpiente por proteólisis directa efectuada por proteinasas del extracto (Mourão de Moura et al., 2014). Para determinar si el mecanismo de inhibición de las enzimas del veneno detectadas se debía a la formación de este tipo de complejos mediados por los metabolitos especializados del extracto, o bien, a la degradación proteolítica del veneno, se realizó el análisis electroforético por SDS-PAGE. Los resultados mostraron que algunas bandas del veneno desaparecieron, así como que la intensidad de otras disminuyó considerablemente en la mezcla que contenía la proporción más alta del extracto (1:20, p:p), sin embargo, se determinó que esto no se debió a proteólisis, ya que no se detectó la aparición de bandas de menor peso molecular que pudieran sugerir degradación proteolítica. La aparición de una banda de muy alto peso molecular en el borde del gel electroforético en las mezclas veneno:extracto se hizo evidente conforme aumentó la cantidad de extracto. Estos hallazgos apuntaron a que los cambios observados en el patrón electroforético del veneno se deben a la formación de complejos de alto peso molecular con los metabolitos del extracto, posiblemente flavonoides y taninos, según lo descrito en estudios similares (Mourão de Moura et al., 2014; Patiño et al., 2012). La disminución de las actividades enzimáticas del veneno correlaciona con la reducción de bandas cuya masa molecular corresponden a las de algunas SVMPS (45-

64 kDa), PLA₂s (14 kDa) y serina proteinasas (39 kDa) del veneno (Angulo & Lomonte, 2009).

Varios estudios han reportado que las propiedades antiinflamatorias de *N. lobata* se relacionan con la presencia de sesquiterpenlactonas en su composición. Los mecanismos de acción propuestos hasta ahora señalan que las sesquiterpenlactonas actúan modulando la expresión de moléculas proinflamatorias. Experimentos realizados por Lajter y colaboradores (2014) con sesquiterpenlactonas extraídas de las partes aéreas de *N. lobata* colectadas en Guatemala disminuyeron la producción de IL-8 en células endoteliales. El extracto etanólico y sesquiterpenlactonas aisladas de la planta colectada en Belice demostraron ser poderosos agentes antiinflamatorios mediante la inhibición de TNF- α (Walshe-Roussel et al., 2013), sustentando su uso tradicional para tratar condiciones inflamatorias por los curanderos maya-q'eqchies de Belice, Centroamérica y el Caribe. McKinnon y colaboradores (2014) demostraron que el extracto metanólico y las sesquiterpenlactonas aisladas de *N. lobata* del norte de Guatemala inhibieron la producción de moléculas proinflamatorias (IL-8 y selectina E) in vitro y redujeron el edema en un modelo animal, lo cual confirmó su potencial terapéutico para contrarrestar la inflamación. En el contexto del envenenamiento ofídico, sus propiedades antiinflamatorias in vivo sugieren que las sesquiterpenlactonas presentes en *N. lobata* del norte de Guatemala y Belice pueden tener también una acción directa sobre las PLA₂s del veneno, lo cual deberá ser evaluado en estudios posteriores.

Previamente se detectó actividad anticoagulante intrínseca en el extracto acuoso de las hojas de *N. lobata* (Saravia et al., 2001) pero no en el etanólico. Sin embargo, al modificarse las condiciones de extracción de los compuestos activos en este estudio, el extracto etanólico también demostró prolongar el tiempo de coagulación de manera concentración-dependiente. Esta actividad de la planta podría explicarse por la presencia de los metabolitos especializados detectados en el extracto etanólico, ya que se sabe que los flavonoides inhiben la actividad enzimática de serina proteinasas, como trombina, plasmina y tripsina (Jedinák et al., 2006), posiblemente por interacción directa con el sitio activo de las enzimas (Cuccioloni et al., 2009). Además, se ha reportado que la presencia de flavonoides, taninos, terpenoides y cumarinas en extractos vegetales produce la inhibición de serina proteinasas (Patiño et al., 2013), por lo que se puede pensar que esos metabolitos de *N. lobata* son responsables de la actividad antitrombina del extracto etanólico.

En conclusión, estas observaciones demuestran que el extracto etanólico de las hojas de *N. lobata* inhibe las actividades proteolítica y PLA₂ del veneno de *B. asper*. Dado que estas actividades se asocian a importantes acciones tóxicas de este veneno, los resultados del estudio plantean la posibilidad de que este extracto sea capaz de inhibir la toxicidad del veneno, lo cual se debe abordar en estudios posteriores. Sin embargo, debe profundizarse en el estudio de sus propiedades anti-trombina, ya que podría afectar las alteraciones en la coagulación, coadyuvando en la desfibrinogénesis inducida por el veneno. Así mismo, se requiere identificar a las moléculas responsables de interactuar con las SVMs, PLA₂s y SVSPs para comprender mejor los mecanismos de inhibición y la posible aplicación de estos metabolitos o sus derivados.

Agradecimientos

Agradecemos la valiosa colaboración de Bruno Lomonte y Ricardo Figueroa. La investigación fue realizada con fondos aportados por la Dirección General de Investigaciones (Digi) dentro del Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud (partida presupuestal 4.8.63.1.05, año 2018).

References

- Angulo, Y., & Lomonte, B. (2009). Biochemistry and toxicology of toxins purified from the venom of the snake *Bothrops asper*. *Toxicon*, 54(7), 949-957. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.12.014>
- Carvalho, B. M. A., Santos, J. D. L., Xavier, B. M., Almeida, J. R., Resende, L. M., Martins, W., Marcussi, S., Marangoni, S., Stábeli, R. G., Calderon, L. A., Soares, A. M., Da Silva, S. L., & Marchi-Salvador, D. P. (2013). Snake venom PLA₂s inhibitors isolated from Brazilian plants: Synthetic and natural molecules. *BioMed Research International*, Article e153045. <https://doi.org/10.1155/2013/153045>
- Castro, O., Gutiérrez, J. M., Barrios, M., Castro, I., Romero M., & Umaña, E. (1999). Neutralización del efecto hemorrágico inducido por veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) por extractos de plantas tropicales. *Revista de Biología Tropical*, 47(3), 605-616.
- Chippaux, J. P. (2017). Incidence and mortality due to snakebite in the Americas. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(6), Article e0005662. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005662>.
- Coe, F. G., & Anderson, G. J. (2005). Snakebite ethnopharmacopoeia of eastern Nicaragua. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 303-323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.026>
- Cuccioloni, M., Mozzicafreddo, M., Bonfili, L., Cecarini, V., Eleuteri, A. M., & Angeletti, M. (2009). Natural occurring polyphenols as template for drug design. Focus on serine proteases. *Chemical Biology & Drug Design*, 74(1), 1-15. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00836.x>
- da Silva, J. O., Fernandes, R., S., Ticali, F. K., Oliveira, C. Z., Mazzi, M. V., Franco, J. J. Juliatti, S., Pereira, P. S., Soares, A. M., & Sampaio, S. V. (2007). Triterpenoid saponins, new metalloprotease snake venom inhibitors isolated from *Pentaclethra macroloba*. *Toxicon*, 50(2), 283-291. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.03.024>
- Felix-Silva, J., Silva-Junior, A. A., Zucolotto, S. M., & Fernandes-Pedrosa M. (2017). Medicinal plants for the treatment of local tissue damage induced by snake venoms: An overview from traditional use to pharmacological evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article e2748256. <https://doi.org/10.1155/2017/5748256>
- Giovannini, P., & Howes M. R. (2017). Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology*, 199, 240-256. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.011>
- Gracioso, J. S., Hiruma, C. A., & Souza Brito. (2000). Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. *Phytomedicine*, 74(4), 283-289. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80045-8](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80045-8)
- Gracioso, J. S., Paulo, M. Q., Hiruma, Lima C. A., & Souza Brito, A. (1998). Antinociceptive effect in mice of a hydroalcoholic extract of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. and its organic fractions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(12), 1425-1429. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb03370.x>

- Gutiérrez, J. M. (2014). Current challenges for confronting the public health problem of snakebite envenoming in Central America. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 20(7). <https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-7>
- Gutiérrez, J. M., Ávila, C., Rojas, E., & Cerdas, L. (1988). An alternative *in vitro* method for testing the potency of the polyvalent antivenom produced in Costa Rica. *Toxicon*, 26(4), 411-413. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(88\)90010-4](https://doi.org/10.1016/0041-0101(88)90010-4)
- Gutiérrez, J. M., Escalante, T., & Rucavado, A. (2009). Experimental pathophysiology of systemic alterations induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*, 54(7), 976-987. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.01.039>
- Gutiérrez, J. M., Rucavado, A., Chaves, F., Díaz, C., & Escalante, T. (2009). Experimental pathology of local tissue damage induced by *Bothrops asper* snake venom. *Toxicon*, 54(7), 958-975. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.01.038>
- Gutiérrez, J. M., Solano, G., Pla, D., Herrera, M., Segura, A., Vargas, M., Villalta, M., Sánchez A., Sanz, L., Lomonte, B., León, G., & Calvete, J. J. (2017). Preclinical evaluation of the efficacy of antivenoms for snakebite envenomings: State-of-the-art and challenges ahead. *Toxins*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/toxins9050163>
- Hay, Y. O. (2002). Estudio etnofarmacológico de plantas utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de leishmaniasis cutánea, del paludismo y de la mordedura de serpientes, en tres departamentos de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Service de Coopération au Développement, Institut de Recherche pour le Développement.
- Jedinák, A., Maliar, T., Grancai, D., & Nagy, M. (2006). Inhibition activities of natural products on serine proteases. *Phytotherapy Research*, 20(3), 214-217. <https://doi.org/10.1002/ptr.1836>
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Omega.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lajter, I., Vasas, A., Béni, Z., Forgo, P., Binder, M., Bochkov, V., Zupkó, I., Krupitza, G., Frisch, R., Kopp, B., & Hohmann, J. (2014). Sesquiterpenes from *Neurolaena lobata* and their antiproliferative and anti-inflammatory activities. *Journal of Natural Products*, 77(3), 576-582. <https://doi.org/10.1021/np400834c>
- Lättig, J., Böhl, M., Fischer, P., Tischer, S., Tietböhl, C., Menschikowski, M., Gutzeit, O., Metz, P., & Pisabarro, M. T. (2007). Mechanisms of inhibition of human secretory phospholipase A₂ by flavonoids: Rationale for lead design. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 21(8), 473-483. <https://doi.org/10.1007/s10822-007-9129-8>
- Lentz, D., Clark, A. M., Hufford, C. D., Meurer-Grimes, B., Passteiter, C. M., Cordero, J., Ibrahimi, O., & Okunade, A. L. (1998). Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 63(3), 253-263. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00100-7](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00100-7)
- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica* (2.^a ed.). Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- McKinnon, R., Binder, M., Zupkó, I., Afonyushkin, T., Lajter, I., Vasas, A., de Martin, R., Unger, C., Dolzing, H., Diaz, R., Frisch, R., Passreiter, C. M., Krupitza, G., Hohmann, J., Kopp, B., & Bochkov, V. N. (2014). Pharmacological insight into the anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass. *Phytomedicine*, 21(12), 1695-1701. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.07.019>
- Ministerio de Sanidad y Consumo, Agencia Española del Medicamento, & Boletín Oficial del Estado (España). (2002). *Real Farmacopea Española: Publicada por el Ministerio de Sanidad y Consumo, por mandato de la ley 25/1990, de 20 de diciembre, del Medicamento* (2.^a ed.).
- Mors, W. B., do Nascimento, M. C., Ruppelt Pereira, B. M., & Alvares Pereira, N. (2000). Plant natural products active against snake bite – the molecular approach. *Phytochemistry*, 55(6), 627-642. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00229-6](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00229-6)

- Mourão de Moura, V., Serra Bezerra, A. N., Veras Mourao, R. H., Varjao Lameiras, J. L., Almeida Raposo, J. D., Luckwu de Sousa, R., Boechat, A. L., Bezerra de Oliveira, R., de Menezes Chalkidis, H., & Dos-Santos, M. C. (2014). A comparison of the ability of *Bellucia dichotoma* Cogn. (Melastomataceae) extract to inhibit the local effects of *Bothrops atrox* venom when pre-incubated and when used according to traditional methods. *Toxicon*, 85, 59-68. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.04.009>.
- Nayak, B. S., Ramlogan, S., Rao, A. V., & Maharaj, S. (2014). *Neurolaena lobata* L. promotes wound healing in Sprague Dawley rats. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 4(2), 106-110. <https://doi.org/10.4103/2229-516X.136791>.
- Otero, R., Fonnegra, R., Jiménez, S. L., Núñez, V., Evans, N., Alzate, S. P., García, M. E., Saldarriaga, M., Del Valle, G., Osorio, R. G., Díaz, A., Valderrama, R., Duque, A., & Vélez, H. N. (2000). Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part I: Traditional use of plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(3), 493-504. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00243-9](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00243-9)
- Otero, R., Núñez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jiménez, S. L., Osorio, R. G., Saldarriaga, M., & Díaz, A. (2000). Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 233-241. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00321-4](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00321-4)
- Parellada, J., Suárez, G., & Guinea, M. (1998). Inhibition of zinc metallopeptidases by flavonoids and related phenolic compounds: Structure-activity relationships. *Journal of Enzyme Inhibition*, 13(5), 347-359. <https://doi.org/10.3109/14756369809021480>
- Patiño, A. C., Benjumea, D. M., & Pereañez, J. A. (2013). Inhibition of venom serine proteinase and metalloproteinase activities by *Renalmia alpinia* (Zingiberaceae) extracts: Comparison of wild and in vitro propagated plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(2), 590-596. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.033>
- Patiño, A. C., López, J., Aristizábal, M., Quintana, J. C., & Benjumea, D. (2012). Efecto inhibitorio de extractos de *Renalmia alpina* Rottb. Maas (Zingiberaceae) sobre el veneno de *Bothrops asper* (mapaná). *Biomédica*, 32(3), 365-374. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.591>
- Pereañez, J. A., Patiño, A. C., Núñez, V., & Osorio, E. (2014). The biflavonoid morelloflavone inhibits the enzymatic and biological activities of a snake venom phospholipase A₂. *Chemico-Biological Interactions*, 220, 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.06.015>.
- Pithayanukul, P., Leanpolchareanchai, J., & Saparpakorn, P. (2009). Molecular docking studies and anti-snake venom metalloproteinase activity of Thai mango seed kernel extract. *Molecules*, 14(9), 3198-3213. <https://doi.org/10.3390/molecules14093198>.
- Posadas, S., Rodríguez, B., Lobo-Echeverri, T., Ramos, R. S., Hyslop, S., & Núñez, V. (2019). Effects of two fractions of *Swietenia macrophylla* and catechin on muscle damage induced by *Bothrops* venom and PLA₂. *Toxins*, 11(1), 40. <https://doi.org/10.3390/toxins11010040>.
- Preciado, L., M., Comer, J., Núñez, V., Rey-Suárez, P., & Pereañez, J. A. (2018). Inhibition of a snake venom metalloproteinase by the flavonoid myricetin. *Molecules*, 23(10), 2662. <https://doi.org/10.3390/molecules23102662>.
- Santhosh, M. S., Hemshekhar, M., Sunitha, K., Thushara, R. M., Jnaneshwari, S., Kemparaju, K., & Girish, K. S. (2013). Snake venom induced local toxicities: plant secondary metabolites as an auxiliary therapy. *Mini Reviews in Medical Chemistry*, 13(1), 106-123.
- Santos, C. B., Bernardino, G. Z., Soares, F. J., Espindola, J. D., Arruda, P. M. R. Paula, JU. R., Conceicao, E. C., & Barra, M. T. F. (2014). Preparo e caracterização de tinturas das folhas de chá verde [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] Theaceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(4), 826-831. https://doi.org/10.1590/1983-084X/10_063

- Saravia, P., Cáceres, A., Velásquez, R., & Lara, O. (2001) Plantas con actividad antiofídica en Guatemala. I. Identificación y evaluación de su capacidad neutralizante (Proyecto FODECYT 47-99). Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Saravia-Otten, P., Hernández, R., Marroquín, N., García, G., Mérida, M., Cruz, S., Orozco, N., Cáceres, A., & Gutiérrez, J. M. (2017). Inhibición de los efectos coagulante, fosfolipasa A₂ y proteolítico del veneno de *Bothrops asper* por plantas usadas tradicionalmente en Centroamérica. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(2), 203-216. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i2.355>
- Theakston, R. D. G., & Reid H. A. (1983). Development of a simple standard assay procedures for the characterization of snake venoms. *Bulletin of World Health Organization*, 61(6), 949-956.
- Turner, B.L. (1982). Taxonomy of *Neurolaena* (Asteraceae-Heliantheae). *Plant Systematics and Evolution*, 140, 119-139. <https://doi.org/10.1007/BF02407293>
- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis* (2nd ed.). B S Publishers.
- Wagner, H., & Bladt, S. (2001). *A thin layer chromatography atlas* (2nd ed.). Springer.
- Walshe-Roussel, B., Choueiri, C., Saleem, A., Asim, M., Caal, F., Cal, V., Otarola Rojas, M., Pesek, T., Durst, T., & Arnason, J. T. (2013). Potent anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. ex Cass., a Q'eqchi' Maya traditional medicine. *Phytochemistry*, 92, 122-137. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.05.004>
- Wang, W., Shih C., & Huang, T. (2004). A novel P-I class metalloproteinase with broad substrate-cleaving activity, agkislysin, from *Agkistrodon acutus* venom. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 324(1), 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.031>
- World Health Organization, (2017). Report of the Tenth Meeting of the WHO strategic and technical advisory group for Neglected Tropical Diseases. 29-30 March 2017 WHO, Geneva. https://www.who.int/neglected_diseases/NTD_STAG_report_2017.pdf

Diversidad de árboles en cuatro etapas de sucesión ecológica del bosque tropical montano nuboso del altiplano occidental de Guatemala

Diversity of trees in four stages of ecological succession of the tropical montane cloud forest in Guatemala's western plateau

Sergio M. Godínez*

Programa Académico de Ingeniería Forestal, Centro Universitario de Noroccidente (Cunoroc),
Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: sgodinez@cunoroc.edu.gt

Recibido: 28 de diciembre 2019 / Revisión: 29 de octubre 2020 / Aceptado: 04 de noviembre 2020

Resumen

El objetivo de la investigación fue identificar la riqueza de especies de árboles en etapas de sucesión ecológica de áreas perturbadas del ecosistema bosque tropical montano nuboso (btmn) del altiplano occidental de Guatemala. Con el propósito de generar un registro de referencia para promover acciones de restauración ecológica. El btmn provee de agua para consumo humano a diez etnias mayas y población mestiza. La presión por deforestación y cambio de uso de la tierra por demanda de leña, madera, pastoreo y agricultura, ha generado fragmentación y deterioro de su composición y estructura. Se delimitó como área de estudio el territorio de sierra de Los Cuchumatanes y Cadena Volcánica Occidental con cotas superiores a 2,400 m s. n. m. Se seleccionaron 37 sitios con cuatro etapas de sucesión ecológica denominadas de plántula, brinzal, latizal, fustal y bosque maduro. Se evaluó la presencia y densidad de especies de árboles, en transectos de 2 x 50 m, para definir comunidades florísticas para cada etapa de sucesión ecológica. Se encontró una riqueza de 67 especies de árboles en las 16 comunidades florísticas diferenciadas, de ellas 40 especies promisorias para restauración. Significa que el 60% de la diversidad arbórea del btmn es apta para promover acciones efectivas para su restauración, conocimiento clave para reorientar los planes orientados al establecimiento de plantaciones de coníferas con fines maderables que impulsa el estado guatemalteco para restaurar este ecosistema.

Palabras claves: Biodiversidad, restauración ecológica, riqueza de especies, perturbación, etnias mayas

Abstract

The goal in this investigation was to identify the richness species of trees in stages of ecological succession in perturbed areas of the tropical montane cloud forest (tmcf's) ecosystem in Guatemala's western plateau. The intentionally is to generate a reference registration to promote ecological restoration actions, which supply clean water to teen Mayan ethnic groups and mestizo population. However, this forest is being affected due to change of land use for cattle, agriculture, firewood a timber, which has generated fragmentation and deterioration in its composition and structure. The territory of Sierra de los Cuchumatanes and Western Volcanic Chain was delimited as a study area with dimensions above 2,400 m a. s. l. 37 places with four stages of ecological succession of plantula, brinzal, latizal, fustal and mature forest were selected. The presence and density of trees species was evaluated in 2x50 m transect, to define floristic communities in each stage of ecological succession. In the 16 floristic communities differentiated was found 67 trees species and 40 of them are promising to restoration. This mean that the 60% of the arboreal wealth richness in the tmcf's is suitable to promote effective restoration deeds, this knowledge is the key to update plans to establishment coniferous plantations for timber purposes, promoted by Guatemalan State to assist in the recovery of this ecosystem.

Keywords: Biodiversity, ecological restoration, species richness, disturbance, ecological succession, Mayan ethnicities



Introducción

Los bosques de distribución restringida comunes en las grandes montañas de difícil acceso, experimentan altas precipitaciones y niebla persistente, se denominan bosques nubosos de montaña o higrofiticos nubosos o brumosos (Hamilton, 1995, 2009; Walte-Vega et al., 2017). También bosque nublado, selva nublada, bosque ombrófilo (Ataroff, 2001), bosque mesófilo (Monterroso-Rivas et al., 2012) y bosques tropicales montanos nubosos (btmn) o *tropical montane cloud forest* (tmcf) (Hamilton et al., 1995). Se les clasifica en bosques nublados a los ubicados entre 1,800 y 3,000 m s. n. m. y bosques altimontanos a los ubicados a más de 3,000 m s. n. m. (Ataroff, 2001). Estos cubren solo el 24% de la superficie terrestre y proporcionan el 60-80% del agua dulce del mundo (Price et al., 2011).

Definidos como ecosistemas hidrológica y ecológicamente únicos (Scatena et al., 2010). Estos registran altas tasas de precipitación (Egan & Price, 2014) y cumplen la función de reguladores de la cantidad y calidad del agua (Guerrero et al., 2006; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016), como sucede con el bosque maduro y secundario altoandino, al contribuir con la mejora a la calidad y cantidad de agua (Ramos Franco & Armenteras Pascual, 2019).

La función de intercepción efectiva de agua de lluvia y condensación de neblina de los bosques nubosos, se relaciona con la arquitectura de las ramas y hojas de los árboles en asocio con epífitas (Ataroff, 2002; Attaroff & Rada, 2000; Blanco, 2017; Hamilton, 1995; López-Mata et al., 2011). Su estructura depende de la diversidad de especies que integran estos ecosistemas, los que se caracterizan por sus altos valores de riqueza y diversidad (Jadán et al., 2017; Ramos Franco & Armenteras Pascual, 2019).

Son ecosistemas altamente vulnerables a los efectos del cambio climático, por su fragilidad biofísica y biodiversidad, a riesgos naturales e impactos humanos, lo que afecta a sus habitantes dependientes del agua (Egan & Price, 2014). Su cubierta forestal primaria continúa fragmentándose y disminuyendo, generando aumento de escorrentía, por conversión a usos agrícolas de subsistencia y comerciales, plantaciones forestales, incendios, proyectos de urbanización invasiva, de infraestructura turística, carreteras, presas y plantas hidroeléctricas (Armenteras Pascual et al., 2007; Price et al., 2011). Como consecuencia, dos terceras partes de los servicios ecosistémicos que brindan a la hu-

manidad (15 de 24 servicios examinados), entre ellos la provisión de agua dulce, la purificación del agua y el tratamiento natural de aguas residuales se están degradando (Guerrero et al., 2006). Esta dinámica socio-ambiental y funcional define la necesidad de su conservación y restauración.

La protección de los fragmentos de matriz y parche de bosque (Williams-Linera, 2012) y la restauración ecológica de sitios degradados, permitirán aumentar la resiliencia y revertir los efectos del impacto humano sobre los sistemas de montaña, acompañados con investigación (Egan & Price, 2014; Ramírez-Marcial et al., 2006). Esto permitirá superar la limitada información relacionada con el potencial de restauración para los diferentes tipos de btmn (Scatena et al., 2010) y así promover la conservación de la estructura y funcionamiento del ecosistema btmn que constituye un valioso activo natural, como objetivo prioritario para mantener el flujo de los servicios ecosistémicos, especialmente el agua (González-Espinosa et al., 2012; Guerrero et al., 2006).

El btmn estudiado identificado como bioma de bosques de montaña (Castañeda, 2008) en el altiplano occidental de Guatemala, se ubica a altitudes mayores a 2,400 m s. n. m. Comprende principalmente las regiones de sierra de las Minas, sierra de los Cuchumatanes y Cadena Volcánica Occidental, con funciones hidrológicas relevantes de provisión de agua y otros servicios ecosistémicos a comunidades con predominancia de población indígena (Castañeda, 2008). Las comunidades pertenecen a las etnias mayas akateka, awacateka, chuj, ixil, k'iche', mam, popiti', q'anjob'al, sakapulteka y uspanteka, con índices de desarrollo humano (IDH) entre 0.399 y 0.432, considerados bajos e inferiores a la media nacional estimada en 0.492, con más del 80% de sus pobladores en condición de pobreza multidimensional (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [PNUD], 2016).

Estos bosques enfrentan presiones por deforestación, con una tasa anual de 1% para el período 2006-2010 y la pérdida de servicios generados (Mesa de Restauración del Paisaje Forestal, 2015). Las presiones son generadas por tala por demanda de leña y madera, áreas para cultivos agrícolas y pastoreo, incendios forestales, crecimiento demográfico y debilidad institucional y legal (Godínez et al., 2016; Villamagua Vergara, 2017).

La función hidrológica que cumple el bosque nuboso se relaciona con su estructura y diversidad, la cual sucede dentro de una dinámica de fragmentación

y disminución superficial por presiones antrópicas en el altiplano occidental de Guatemala. Históricamente para la recuperación de las áreas disturbadas de este ecosistema, se ha promovido y reglamentado el establecimiento de plantaciones generalmente con especies de coníferas. Esta tendencia se evidencia en las opciones de restauración de este ecosistema propuestas por la Mesa Nacional de Restauración del Paisaje Forestal de Guatemala (2018), las que se enfocan únicamente en plantaciones con fines maderables de las especies del género *Pinus* y *Abies guatemalensis*. Estas acciones reducen la diversidad y simplifican la estructura deteriorando la capacidad de regulación hidrológica y generación de servicios ecosistémicos del bosque nuboso.

Este contexto genera la pertinencia de identificar la diversidad de especies de árboles del btmn (Godínez et al., 2017), para generar un registro que permita promover acciones de restauración ecológica. Con la finalidad de contribuir con: (a) la estrategia nacional para el uso y conservación de los bosques nubosos, (b) la estrategia nacional de restauración del paisaje forestal y (c) la política nacional de diversidad biológica (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, 2011; Mesa de Restauración del Paisaje Forestal, 2015).

El estudio se realizó en áreas disturbadas del btmn en proceso de restauración ecológica pasiva del altiplano occidental de Guatemala. Se evaluó la presencia y abundancia de especies, en transectos de 50 x 2 m establecidos en sitios de sucesión ecológica existentes en áreas con cotas mayores a 2,400 m s. n. m. Se identificó la diversidad e importancia ecológica de especies nativas de árboles y la similitud entre etapas de sucesión ecológica.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El área geográfica del estudio se limitó a las cotas superiores a 2,400 m s. n. m., de la Cadena Volcánica Occidental y sierra de los Cuchumatanes, dentro de los límites administrativos departamentales de Huehuetenango, Quiché y Totonicapán (Figura 1). Se evaluó la diversidad ecológica forestal en 37 sitios, distribuidos en ocho pisos altitudinales (Tabla 1). Territorio ocupado por asentamientos humanos ladinos y de las etnias mayas akateka, awacateka, chuj, ixil, k'iche', mam, popti', q'anjob'al, sakapulteka y uspanteka. El estudio se realizó en el período de febrero a noviembre de 2017.

Se seleccionaron áreas definidas como potenciales para la restauración del paisaje forestal, en las categorías de tierras forestales y de áreas protegidas definidas en el mapa de prioridades de restauración por la Mesa de Restauración del Paisaje Forestal (2015) de Guatemala. En estas áreas se identificaron sitios con procesos de sucesión ecológica forestal y bosque maduro asociado, desarrollando una base de datos de sitios efectivos de muestreo (Villareal et al., 2004).

Colecta de datos de campo

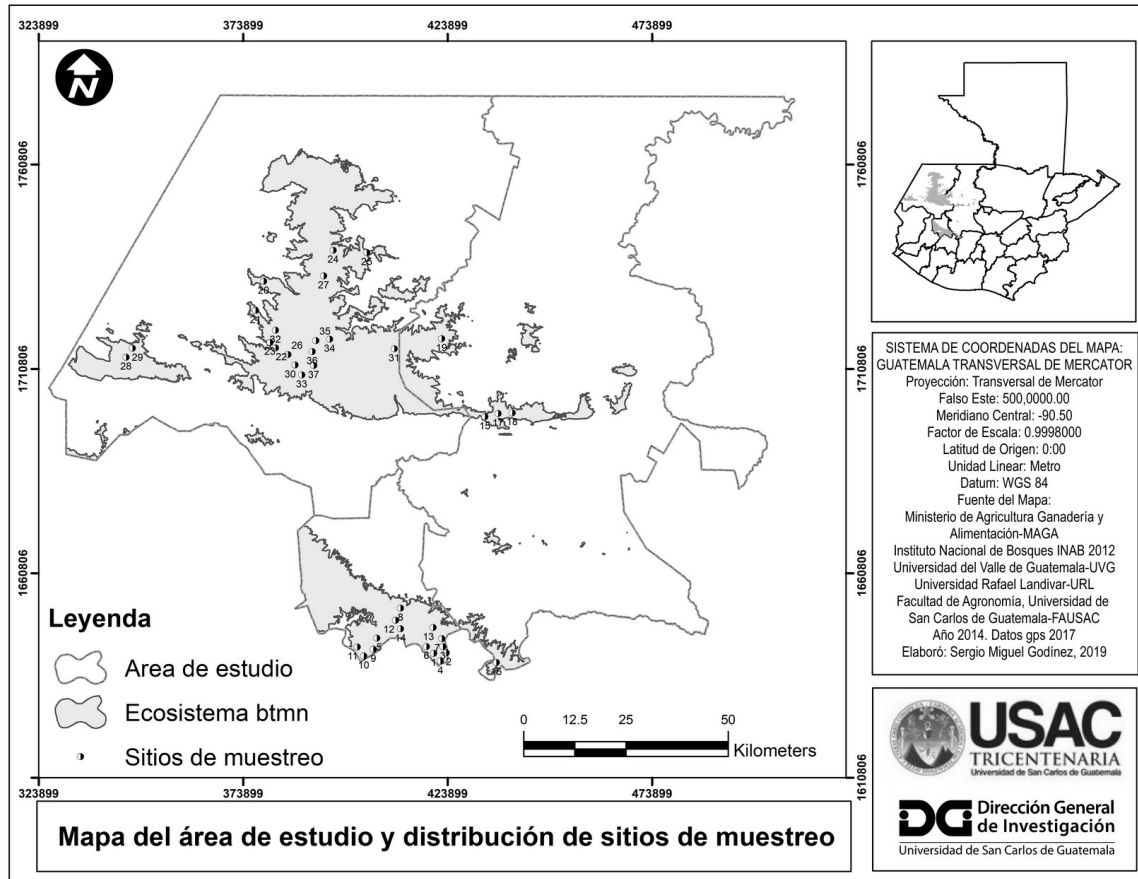
El área presenta un gradiente altitudinal que varía de 2,400 a 3,824 m s. n. m. y se dividió en ocho pisos altitudinales de 200 m de amplitud. Al interior se distribuyeron los sitios de evaluación, seleccionando los que presentaban vegetación forestal con diversas etapas de sucesión ecológica, para cumplir el criterio de la representatividad de la vegetación y proceso de sucesión a evaluar (Orozco & Brumér, 2002). Se ubicaron utilizando el método de muestreo por intensión o conveniencia. Las etapas de sucesión ecológica evaluadas fueron cuatro y se definieron en función de la clase de desarrollo de los árboles, descritas a continuación. Etapa I, plántula (hasta 30 cm de alto) se incluyó para evidenciar procesos de regeneración en áreas de restauración (Rojas-B., 2017) y brinzal (individuos mayores a 30 cm de altura hasta 4.9 cm de diámetro a 1.3 m de altura sobre el fuste [DAP]); etapa II, latizal (5.0 a 9.9 cm DAP); etapa III, fustal (10 a 14.9 cm DAP) y etapa IV o bosque natural maduro, fustal maduro (> 25 cm DAP).

Las unidades de muestreo de vegetación, fueron transectos de 50 x 2 m, basado en el método Gentry (Sayre et al., 2002), aplicado a la investigación geobotánica de bosques tropicales y subtropicales (Cámara Artigas & Díaz del Olmo, 2013; Mijares Santana & Pérez-Buitrago, 2019; Rojas-B., 2017). Los transectos se ubicaron en el centro de las áreas de sucesión ecológica, para las etapas I, II, III y dentro del bosque maduro a 100 m del borde. La orientación de los transectos fue la que permitió coleccionar la mayor diversidad de especies de árboles, existente en el sitio de evaluación (Cámara Artigas & Díaz del Olmo, 2013).

Se evaluó la presencia y densidad de las especies de árboles en cada etapa de sucesión ecológica, se coleccionaron y herborizaron muestras de los especímenes hallados. La identificación taxonómica de las especies se realizó en el laboratorio del Centro Universitario de Noroccidente con base a *Flora of Guatemala* (Standley

Figura 1

Ubicación geográfica del área de estudio y de los sitios de muestreo en el ecosistema bosque tropical montano nublado del altiplano occidental de Guatemala



et al., 1947-1977) y consultando el sitio *The Plant List* (2013). Muestras de especímenes evaluados se depositaron en el herbario Aguat de la Facultad de Agronomía de Universidad de San Carlos de Guatemala.

Métrica ecológica

La similitud o afinidad florística, se determinó con el índice de similitud de Sørensen (IS) basado en la presencia y ausencia de especies de sitios comparados. Su expresión matemática es como sigue: $IS = [2c/(a + b)] * 100$; donde, c = número de especies comunes a ambos sitios de muestreo, a = número total de especies presentes en el sitio a y b = número total de especies presentes en el sitio b . Con los valores de similitud generados de la comparación entre pares de transectos de la misma etapa de sucesión ecológica, se construyeron

las matrices de similitud de las cuatro etapas (Mateucci & Colma, 1982). El análisis de agrupamiento sobre la base de las proporciones de similitud estimada se realizó utilizando el método de mínima varianza y distancia euclídea promedio con el programa *InfoStat* (Universidad Nacional de Córdoba, s.f.). Se definieron cuatro grupos de afinidad florística para cada etapa de sucesión ecológica con niveles de cese entre el 40 al 60% de la distancia con el propósito de facilitar la interpretación de los resultados, cada uno se consideró una comunidad florística.

Se estimó el índice de valor de importancia de Cottam (Mateucci & Colma, 1982), modificado para datos de frecuencia y densidad, como criterio para la definición de la importancia ecológica de las especies y la denominación de comunidades florísticas de sucesión ecológica. Las expresiones matemáticas son:

Tabla 1

Ubicación de sitios de muestreo, comunidades florísticas por etapa de sucesión ecológica

N°	Sitio de muestreo			Altitud		Etapas sucesión ecológica			
	Departamento	Nombre	Código	m s.n.m.	Piso	E-I	E-II	E-III	E-IV
1	Totonicapán	Chipú 1	BCh1	2627	II	C3 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
2	Totonicapán	Payaxon	BPa	2644	II	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
3	Totonicapán	Chipú 2	BCh2	2645	II	C3 ^m	C4 ^m	C3 ^a	C4 ^m
4	Totonicapán	Camino Real Barreneché	CRB	2732	II	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
5	Totonicapán	Chipuac	TCP	2901	III	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m
6	Totonicapán	Paraje Chipión	PCh	3024	IV	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
7	Totonicapán	Xe Mexicano	XMe	3103	IV	C2 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
8	Totonicapán	Xe Campana	XCa	3105	IV	C2 ^m	C4 ^m	C1 ^m	C3 ^m
9	Totonicapán	Cerro Sija, Alaska	CSA	3146	IV	C1 ^b	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
10	Totonicapán	Patzinchaj	TPa	3147	IV	C2 ^m	C1 ^b	C2 ^m	C3 ^m
11	Totonicapán	Parcialidad Vásquez	PVa	3172	IV	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C1 ^m
12	Totonicapán	Campana Abaj	CaA	3238	V	C2 ^m	C4 ^m	C1 ^m	C1 ^m
13	Totonicapán	Chu Muchulic	CMu	3320	V	C2 ^m	C2 ^b	C1 ^m	C1 ^m
14	Totonicapán	Chui Jolom	CJo	3328	V	C2 ^m	C2 ^b	C1 ^m	C1 ^m
15	Quiché	Chiúl_3	Ch3Q	2593	I	C3 ^m	C4 ^m	C3 ^a	C2 ^a
16	Quiché	Bosque Churuneles	BCh	2641	II	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m
17	Quiché	Chiúl_2	Ch2Q	2765	II	C3 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^a
18	Quiché	Chiúl_1	Ch1Q	2946	III	C3 ^m	C3 ^m	C3 ^a	C2 ^a
19	Quiché	Batzumal	CBa	2990	III	C3 ^m	C3 ^m	C3 ^a	C2 ^a
20	Huehuetenango	Bosque Sur Goya	SGo	2489	I	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m
21	Huehuetenango	Bosque Mujel	BMu	2528	I	C2 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^m
22	Huehuetenango	Los Lucas	LLu	2554	I	C4 ^m	C4 ^m	C2 ^m	C4 ^m
23	Huehuetenango	Batzalom	BTz	2590	I	C3 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m
24	Huehuetenango	Jobe Copral	JCo	2637	II	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m	C4 ^m
25	Huehuetenango	Bosque Yaxcalante	BYa	2652	II	C3 ^m	C4 ^m	C3 ^a	C2 ^a
26	Huehuetenango	Tuj Ch'ech	TCh	2780	II	C2 ^m	C1 ^b	C2 ^m	C3 ^m
27	Huehuetenango	Bosque Golola	BGo	2936	III	C4 ^m	C3 ^m	C3 ^a	C3 ^m
28	Huehuetenango	El Aguacate II	EAg_2	2950	III	C3 ^m	C3 ^m	C3 ^a	C2 ^a
29	Huehuetenango	El Aguacate I	EAg_1	3050	IV	C3 ^m	C3 ^m	C3 ^a	C2 ^a
30	Huehuetenango	La Maceta	LMa	3068	IV	C4 ^m	C3 ^m	C4 ^m	C3 ^m
31	Huehuetenango	Palop	MPa	3096	IV	C3 ^m	C3 ^m	C4 ^m	C2 ^a
32	Huehuetenango	Puerta del Cielo	PCi	3311	V	C3 ^m	C3 ^m	C1 ^m	C3 ^m
33	Huehuetenango	La Ventosa	LVe	3345	V	C2 ^m	C2 ^b	C1 ^m	C1 ^m
34	Huehuetenango	Llanos San Miguel	SMi	3425	VI	C1 ^b	C1 ^b	C1 ^m	C1 ^m
35	Huehuetenango	Txe Huito	THu	3525	VI	C1 ^b	C1 ^b	C1 ^m	C1 ^m
36	Huehuetenango	Valles bajo La Torre	VIn	3732	VII	C1 ^b	C1 ^b	C1 ^m	C1 ^m
37	Huehuetenango	La Torre	LTo	3811	VIII	C1 ^b	C2 ^b	C1 ^m	C1 ^m

Nota. Referencias: C1 a C4 = comunidades florísticas; riqueza o diversidad: a = alta, m = media, b = baja

$F = (ntpSi/ntT)*100$; $Fr = (F/\sum F)*100$; $D = (niSi)/at$; $Dr = D/\sum D*100$ y $IVI = (Fr+Dr)/200$, donde F = frecuencia de la especie i , Fr = frecuencia relativa, $ntpSi$ = número total de transectos donde está presente la especie i , ntT = número total de transectos, D = densidad de la especie i , Dr = densidad relativa, $niSi$ = número de individuos de la especie i , at = área en m^2 del transecto, IVI = índice de valor de importancia en base 100.

La diversidad florística alfa se evaluó con los índices de Shannon-Wiener o heterogeneidad (H'), número equivalente o efectivo de especies (1D) (Jost, 2018) y equidad de Pielou (J'). H' tiene el mérito de ser independiente del tamaño de muestra estimando la diversidad basado en la extracción al azar de la muestra (Badii et al., 2008) y refleja la heterogeneidad de una comunidad definida por la riqueza de especies y su abundancia relativa (McDonald, 2003; Moreno, 2001; Pla, 2006), mide la complejidad biológica generalmente en unidades nats utilizando logaritmos naturales (\ln) (Jost & González-Oreja, 2012). En la mayoría de ecosistemas naturales el valor de H' varía de 1 a 5 (Margalef, 1972) y su valor máximo teórico es $\ln(S)$ y normalmente no excede 5 (Krebs, 1996). Adquiere los máximos valores cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos (Magurran, 2004). Los valores normales varían entre 2 y 3, interpretando valores inferiores a 2 como baja riqueza, de 2 a 3.5 riqueza media y mayores de 3.5 alta riqueza (Graciano-Ávila et al., 2017; McDonald, 2003; Mora-Donjuán et al., 2017). El índice 1D es una medida que permite apreciar las diferencias de diversidad y medir la similitud entre comunidades, al ser sensible a las diferencias en las abundancias relativas de las especies; asignando a todas un peso igual sin favorecer o penalizar ni a las especies raras ni a las frecuentes (Jost, 2018; Jost & González-Oreja, 2012).

El índice J' evalúa el grado de regularidad o uniformidad con la que los individuos están distribuidos dentro de las especies y no así la riqueza de especies (Martella et al., 2012; Moreno, 2001). Relaciona la diversidad observada y la máxima diversidad y su valor varía de 0 que indica la menor uniformidad a 1 que indica que todas las especies son igualmente abundantes o máxima uniformidad (Magurran, 2004). Las expresiones matemáticas son: $H' = -\sum (Pi)*(ln Pi)$, $^1D = e^{H'}$ y $J' = H'/\ln S$; donde $Pi = ni/N$, ni = abundancia para la especie i , N = abundancia total de todas las especies, \ln = logaritmo natural, e = base de logaritmo natural y S = número de especies o riqueza (Mateucci & Colma, 1982).

Resultados

La diversidad de árboles está representada por 67 especies, las que pertenecen a 44 géneros y 29 familias (Tabla 2). Esta se agrupa en cuatro comunidades florísticas por cada etapa de sucesión ecológica estudiada (Figura 2 y Tabla 3). Las familias más diversas con más de tres especies son Rosaceae, Fagaceae, Primulaceae, Pinaceae, Lauraceae, Adoxaceae, Asteraceae, Celastraceae, Clethraceae, Cupressaceae y Symplocaceae (Tabla 2).

Se estableció que la similitud entre el bosque maduro y una o más etapas de sucesión, asciende a 56 especies equivalente al 84% de la diversidad y 40 especies (60%) son comunes a las cuatro etapas de sucesión ecológica (Tabla 2). Las tres especies de cada comunidad florística con el mayor IVI en las 16 comunidades suman 20 especies, equivalente al 30% de la diversidad y de estas *P. hartwegii* Lindl., *Buddleja megalcephala* Donn.Sm., y *Verbesina apleura* S.F. Blake, equivalente al 4.5%, son comunes a las cuatro etapas de sucesión evaluadas (Tabla 3).

El índice H' varía de 0.96 a 3.64 (Tabla 3). Las comunidades florísticas C1 de la etapa I, C1 y C2 de la etapa II, se definen como de baja riqueza (Tabla 1), ubicadas a altitudes superiores a 3,000 m s. n. m., en la meseta de la sierra de los Cuchumatanes y Sierra María Tecún. Las comunidades florísticas C3 etapa III y C2 etapa IV se definen como de alta riqueza (Tabla 1), ubicados entre 2,400 y 3,200 m s. n. m., con 15 de los 16 sitios evaluados en la falda norte de sierra de los Cuchumatanes. Las 11 comunidades florísticas complementarias distribuidas en las cuatro etapas (Tabla 1), se clasifican como de riqueza media, ubicadas en los rangos de 2,400 a 3,400 m s. n. m.

Las mayores diferencias de magnitud entre la riqueza de especies y el número equivalente de especies (Tabla 3), tiende a manifestarse con más énfasis en las etapas III y IV con variación entre 20 a 25% en cinco de las ocho comunidades y en las comunidades C2 y C4 de la etapa I. Las comunidades C4 de las etapas II y IV expresan las mayores variaciones estimadas en 29% y 30% respectivamente. Y la tendencia a las menores variaciones en las etapas I y II en cinco de las ocho comunidades. El índice J' en las 16 comunidades florísticas diferenciadas varían de 0.88 a 0.97, indicando que todas las especies de cada comunidad manifiestan una tendencia de alta uniformidad o igualmente abundantes (Moreno, 2001).

Tabla 2

Diversidad de especies de árboles y su presencia en las etapas de sucesión ecológica

N°	Familia	Nombre científico	E-I	E-II	E-III	E-IV
1	Actinidaceae	<i>Saurauia kegeliana</i> Schltld.	1	0	0	1
2	Actinidaceae	<i>Saurauia oreophila</i> Hemsl.*	1	1	1	1
3	Adoxaceae	<i>Sambucus canadensis</i> L.	0	0	1	0
4	Adoxaceae	<i>Viburnum</i> sp2.	1	1	0	1
5	Adoxaceae	<i>Viburnum discolor</i> Benth.*	1	1	1	1
6	Adoxaceae	<i>Viburnum jucundum</i> C.V.Morton*	1	1	1	1
7	Araliaceae	<i>Oreopanax capitatus</i> (Jacq.) Decne. & Planch.+	0	1	1	1
8	Araliaceae	<i>Oreopanax xalapensis</i> (Kunth) Decne. & Planch.*	1	1	1	1
9	Berberidaceae	<i>Berberis volcania</i> (Standl. & Steyerl.) Marroq. & Laferr. ^a	0	0	1	1
10	Betulaceae	<i>Alnus acuminata</i> subsp. <i>arguta</i> (Schltld.) Furlow*	1	1	1	1
11	Betulaceae	<i>Alnus jorullensis</i> Kunth*	1	1	1	1
12	Brunelliaceae	<i>Brunellia mexicana</i> Standl.	0	0	0	1
13	Celastraceae	<i>Euonymus</i> sp.*	1	1	1	1
14	Celastraceae	<i>Microtropis</i> sp.	0	0	0	1
15	Celastraceae	ND1 ^a	0	0	1	1
16	Chloranthaceae	<i>Hedyosmum mexicanum</i> C.Cordem.*	1	1	1	1
17	Clethraceae	<i>Clethra licanoides</i> Standl. & Steyerl. ^a	0	0	1	1
18	Clethraceae	<i>Clethra mexicana</i> DC*	1	1	1	1
19	Clethraceae	<i>Clethra pachecoana</i> Standl. & Steyerl.*	1	1	1	1
20	Compositae	<i>Critoniadelphus nubigenus</i> (Benth.) R.M.King & H.Rob.*	1	1	1	1
21	Compositae	<i>Eupatorium</i> sp.	0	0	1	0
22	Compositae	<i>Verbesina apleura</i> S.F.Blake*	1	1	1	1
23	Cornaceae	<i>Cornus disciflora</i> Moc. & Sessé ex DC.+	0	1	1	1
24	Cupressaceae	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.*	1	1	1	1
25	Cupressaceae	<i>Juniperus comitana</i> Martínez*	1	1	1	1
26	Cupressaceae	<i>Juniperus standleyi</i> Steyerl.*	1	1	1	1
27	Ericaceae	<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth*	1	1	1	1
28	Ericaceae	<i>Camarostaphylis arbutoides</i> Lindl.*	1	1	1	1
29	Fagaceae	<i>Quercus benthamii</i> A.DC	0	0	1	0
30	Fagaceae	<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.*	1	1	1	1
31	Fagaceae	<i>Quercus ocoteifolia</i> Liebm.*	1	1	1	1
32	Fagaceae	<i>Quercus peduncularis</i> Née*	1	1	1	1
33	Fagaceae	<i>Quercus seemannii</i> Liebm.*	1	1	1	1
34	Garryaceae	<i>Garrya laurifolia</i> Benth.*	1	1	1	1
35	Lauraceae	<i>Litsea glaucescens</i> Kunth*	1	1	1	1

Tabla 2 (Continuación)

Nº	Familia	Nombre científico	E-I	E-II	E-III	E-IV
36	Lauraceae	<i>Nectandra</i> sp.+	0	1	1	1
37	Lauraceae	<i>Ocotea salvinii</i> Mez+	0	1	1	1
38	Lauraceae	<i>Persea</i> sp.*	1	1	1	1
39	Malvaceae	<i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat.*	1	1	1	1
40	Myricaceae	<i>Morella cerifera</i> (L.) Small	0	1	0	0
41	Onagraceae	<i>Fuchsia arborescens</i> Sims++	1	1	1	0
42	Pentaphragaceae	<i>Cleyera theoides</i> (Sw.) Choisy*	1	1	1	1
43	Pentaphragaceae	<i>Ternstroemia tepezapote</i> Cham. & Schltldl.	0	1	0	1
44	Pinaceae	<i>Abies guatemalensis</i> Rehder*	1	1	1	1
45	Pinaceae	<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schltldl.*	1	1	1	1
46	Pinaceae	<i>Pinus hartwegii</i> Lindl.*	1	1	1	1
47	Pinaceae	<i>Pinus pseudostrabus</i> Lindl.*	1	1	1	1
48	Primulaceae	<i>Ardisia</i> sp1.*	1	1	1	1
49	Primulaceae	<i>Ardisia compressa</i> Kunth	0	0	0	1
50	Primulaceae	<i>Ardisia venosa</i> Mast. ex Donn.Sm.+	0	1	1	1
51	Primulaceae	<i>Myrsine juergensenii</i> (Mez) Ricketson & Pipoly	0	1	0	1
52	Primulaceae	<i>Parathesis tartarea</i> Lundell*	1	1	1	1
53	Rhamnaceae	<i>Frangula discolor</i> (Donn.Sm.) Grubov+	0	1	1	1
54	Rosaceae	<i>Photinia matudai</i> Lundell	0	0	1	0
55	Rosaceae	<i>Prunus</i> sp1.*	1	1	1	1
56	Rosaceae	<i>Prunus</i> sp2 ^a .	0	0	1	1
57	Rosaceae	<i>Prunus</i> sp3.*	1	1	1	1
58	Rosaceae	<i>Prunus rhamnoides</i> Koehne*	1	1	1	1
59	Rosaceae	<i>Prunus salasii</i> Standl*	1	1	1	1
60	Scrophulariaceae	<i>Buddleja megalcephala</i> Donn.Sm.*	1	1	1	1
61	Scrophulariaceae	<i>Buddleja skutchii</i> Morton*	1	1	1	1
62	Staphyleaceae	<i>Turpinia</i> sp.++	1	1	1	0
63	Symplocaceae	<i>Symplocos</i> sp1.*	1	1	1	1
64	Symplocaceae	<i>Symplocos</i> sp2.*	1	1	1	1
65	Symplocaceae	<i>Symplocos hartwegii</i> A.DC. ^a	0	0	1	1
66	Verbenaceae	<i>Lippia</i> sp. ++	1	1	1	0
67	Winteraceae	<i>Drimys granadensis</i> L.f.*	1	1	1	1
Número de especies por etapa de sucesión ecológica			46	54	59	59

Nota. Referencias: E-I a E-IV = etapas de sucesión ecológica; 1 = presencia, 0 = ausencia; especies comunes a: * = EI, EII, EIII, EIV; + = EII, EIII, EIV; ++ = EI, EII, EIII; ^a = EIII, EIV

Figura 2

Dendrogramas de clasificación de comunidades de especies de árboles (C1, C2, C3, C4) de las etapas (E) de sucesión ecológica I, II, III y IV del ecosistema de bosque tropical montano nuboso del altiplano occidental de Guatemala

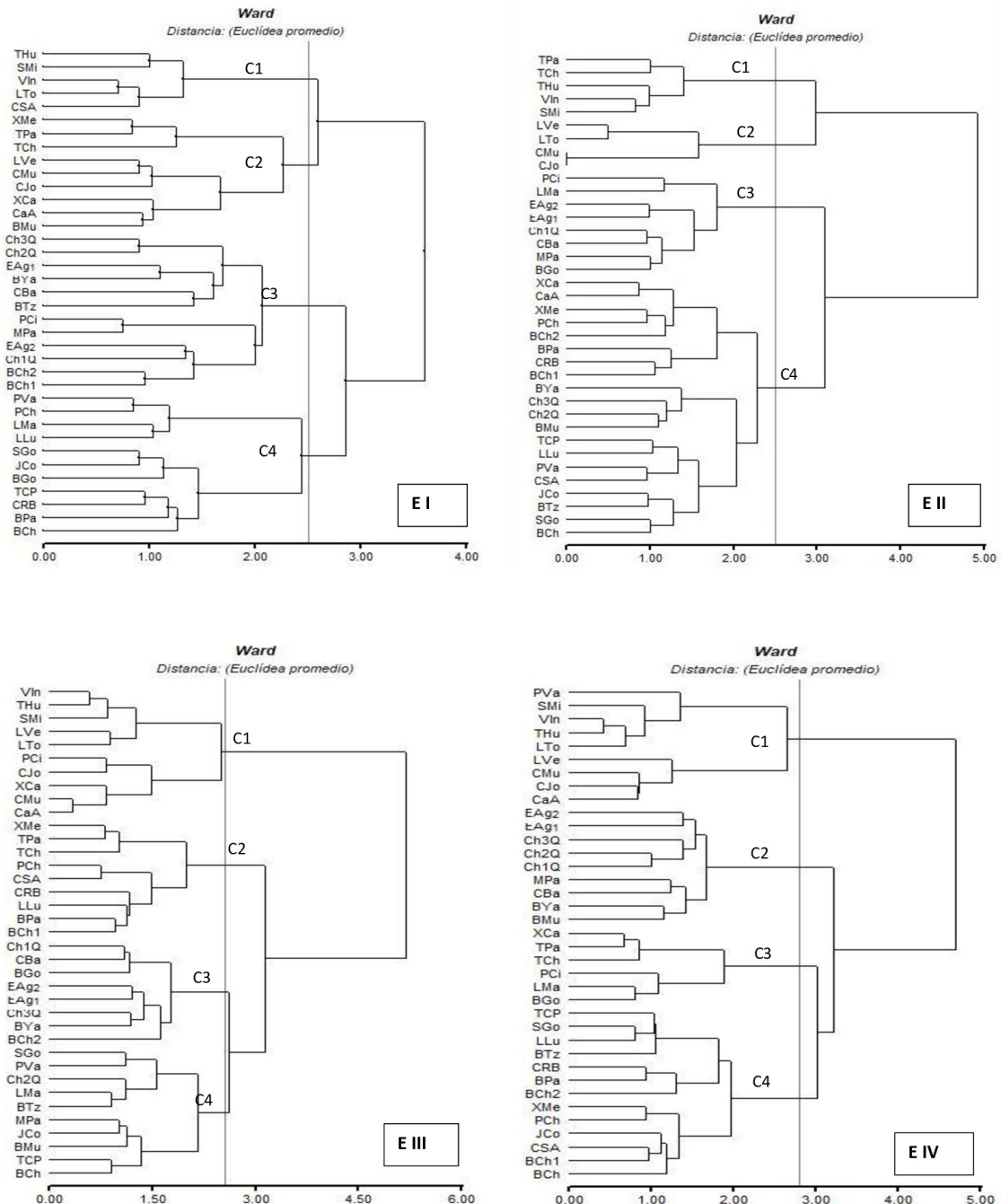


Tabla 3
 Descripción de la biodiversidad por y etapas y comunidades florísticas de sucesión ecológica

Elemento del ecosistema	Etapa I				Etapa II				Etapa III				Etapa IV			
Número de especies+	46				54				59				59			
Comunidad florística	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Número de especies++	3	15	36	21	6	4	27	45	10	32	40	24	12	44	16	33
Índice H'	0.96	2.51	3.46	2.79	1.68	1.34	3.14	3.46	2.14	3.16	3.56	2.97	2.22	3.64	2.54	3.13
Índice de Pielou (J')	0.88	0.93	0.97	0.92	0.94	0.97	0.95	0.91	0.93	0.91	0.97	0.93	0.89	0.96	0.92	0.89
ID	3	12	32	16	5	4	23	31	9	24	35	20	9	38	13	23
# sitios por piso altitudinal	5	9	12	11	5	4	8	20	10	10	7	10	10	9	6	12
2,400-2,600 m s.n.m.	1	1	1	2				4	1	1	1	2	2	2		2
2,600-2,800 m s.n.m			5	4				9	3	3	2	4	2	2		7
2,800-3,000 m s.n.m	1	2	2	2	1	4	4	1	2	2	3	1	3	2	1	1
3,000-3,200 m s.n.m	1	3	3	3	1	3	3	5	1	4	1	3	2	2	3	2
3,200-3,400 m s.n.m	4	4	1		3	1	1	1	5				4	4	1	
3,400-3,600 m s.n.m	2				2				2				2			
3,600-3,800 m s.n.m	1				1				1				1			
>3,800 m s.n.m	1				1				1				1			
Especies dominantes ^a	Índices de valor de importancia de Cottam															
<i>Juniperus standleyi</i>	44.4				33.3	18.2							15.4			
<i>Pinus hartwegii</i>	44.4				22.2				20.5				24.6			
<i>Alnus jorullensis</i>	11.1	13.1			27.3				15.4							
<i>Buddleja megaloccephala</i>		13.7			36.4				15.4				13.8			
<i>Verbesina apleura</i>		12.3				12.9						14.2				12.8
<i>Oreopanax xalapensis</i>			6.6			8.3				8.8						
<i>Litsea glaucescens</i>			5.7													
<i>Viburnum jucundum</i>			4.9								4.5					
<i>Pinus pseudostrobus</i>				15.2									4.9			6.2

Tabla 3 (Continuación)

Elemento del ecosistema	Etapa I	Etapa II	Etapa III	Etapa IV
<i>Arbutus xalapensis</i>		13.0		9.2
<i>Pinus ayacahuite</i>		10.9	12.2	18.5
<i>Quercus peduncularis</i>		11.1		9.8
<i>Garrya laurifolia</i>			8.3 5.7	8.1
<i>Abies guatemalensis</i>			8.3	15.4
<i>Viburnum discolor</i>			6.5	4.5
<i>Saurauia oreophila</i>			4.5	8.9
<i>Buddleja skutchii</i>				7.1
<i>Alnus acuminata</i> subsp. <i>arguta</i>				6.1
<i>Cleyera theoides</i>				5.5
<i>Quercus seemannii</i>				

Nota. Referencias: +: por etapa de sucesión ecológica, ++: por comunidad florística, 'D: número equivalente de especies, 'I: las tres especies con mayor índice de valor de importancia ecológica por comunidad florística

Discusión

Diversidad de especies

La diversidad de especies de árboles de cada etapa respecto del total (Tabla 2), varía de manera ascendente de 69% en la etapa de sucesión ecológica I a 88% en la etapa III (Tabla 3). Esto evidencia alta identidad de riqueza de especies entre las etapas de sucesión ecológica y el bosque maduro; superando al 53% de especies comunes entre bosques montanos secundarios y maduros (Gayley & Sridith, 2020). De esto se infiere que los mecanismos de sucesión ecológica de colonización que comprende la invasión y la sobrevivencia (Kimmins, 1997), han sido exitosos y que atiende al comportamiento de las primeras etapas de sucesión ecológica (Sardi et al., 2018). Esto debido posiblemente a las bajas temperaturas generadas por la altitud y la cobertura que sombrea el suelo reduce la evaporación (Price et al., 2011), generando condiciones favorables de humedad en el suelo para la colonización; interpretándose como una adecuada adaptación y tolerancia de las especies, a las condiciones físicas y bióticas en las primeras etapas de sucesión ecológica de los sitios alterados. El incremento de la diversidad expresada en riqueza a medida que avanza el proceso de sucesión ecológica (Tablas 1 y 3), es el resultado de la edad cronológica de cada etapa de sucesión (Jadán et al., 2017), además posiblemente implica estabilidad de las comunidades de sucesión, incremento de interacciones y de eficiencia en el uso de los recursos que fortalece las funciones ecológicas (Badii & Ruvalcaba, 2007; Sans, 2007; Vilà, 1998).

De las 67 especies de árboles hallados, 42 (63%) se agrupan en 11 (39%) familias consideradas las más diversas, las cuales incluyen a Rosaceae, Lauraceae y Fagaceae definidas como dominantes en los bosques nubosos (Aguirre Méndez et al., 2017; Rasal-Sánchez et al., 2012). La magnitud de diversidad que incluyen estas familias permite suponer su influencia en la mayor parte de procesos ecosistémicos transformados en productividad resultado de su actividad biológica (Sociedad Norteamericana de Ecología, 1999) y generación de servicios ecosistémicos (Badii & Ruvalcaba, 2007).

Las especies *Alnus arguta* (Schlecht.) Spach y *Clethra mexicana* A. DC., y los géneros *Alnus*, *Buddleja*, *Clethra*, *Cornus*, *Hedyosmum*, *Morella*, *Myrsine*, *Nectandra*, *Quercus*, *Saurauia* y *Symplocos* (Bussmann, 2005; Ramírez-Marcial et al., 2006; Santiago-Pérez et al., 2009), definidos como caracte-

rísticos del bosque nuboso (Monterroso-Rivas et al., 2012), existen en el ecosistema estudiado (Tabla 2). Las familias consideradas dominantes en bosques nubosos a altitudes mayores a 2,700 m s. n. m. en la Sierra Andina son Rosaceae y Lauraceae (Girardin et al., 2014), Lauraceae y Fagaceae en el bosque mesófilo de México (Ramírez-Marcial et al., 2006), mismas que figuran entre las más diversas en el área de estudio. Esa similitud de géneros, especies y familias, permiten inferir la denominación del área estudiada como un ecosistema de bosque nuboso, integrado por elementos holárticos y neotropicales (Ramírez-Marcial et al., 2006), resultado del intercambio de diversidad entre norte y sur América, que definen los patrones fitogeográficos del Neotrópico (Gentry, 1982).

Similitud de diversidad entre etapas de sucesión ecológica y el bosque maduro

Las condiciones micro climáticas y del suelo son afectadas en las primeras etapas de sucesión ecológica, generando cambios en la biodiversidad (Kimmins, 1997) y solamente el 50% de especies muestran relación con algún hábitat al evaluar las variables de altitud, temperatura, curvatura del terreno y de estructura forestal (altura dominante, número de árboles y número de especies) según Ledo (2013). La similitud de riqueza entre las etapas de sucesión y el bosque maduro en el área de estudio, supera el 50% definido por Ledo (2013); este comportamiento de la diversidad en el proceso de sucesión ecológica, demuestra la capacidad de adaptación y tolerancia de la vegetación leñosa a la alteración micro climática y del suelo en las áreas disturbadas.

Las especies *Arbutus xalapensis* Kunth, *Litsea glaucescens* Kunth, y *Morella cerifera* (L.) Small., resisten sequías y heladas, crecen bien en áreas de pastizales y matorrales (Quintana-Ascencio et al., 1993) y *C. mexicana* especie característica de bosques mixtos de pino y encino de altitudes que varían entre 1,900-3,200 m s. n. m.; son cuatro especies que toleran poco la sombra y con frecuencia ocupan claros de los bosques y ambientes alterados (González-Villareal, 1996). También *A. guatemalensis* Rehder., *P. pseudostrubus* Lindl., y *P. ayacahuite* Ehrenberg, sobreviven y crecen mejor en áreas abiertas (Quintana-Ascencio et al., 2004) y son dominantes en la etapa de árboles (Martínez-Arévalo, 2016). *P. pseudostrubus* reporta distancias de dispersión de regeneración natural establecida de la fuente de semillas, hasta 75 m en borde y 175 m

en claro (Godínez et al., 2016). Seis de las siete especies enunciadas están presentes en las etapas de sucesión ecológica (Tabla 2) y manifiestan un comportamiento similar en el área estudiada.

La especie *C. disciflora* está presente en las etapas II, III y IV (Tabla 2) de bosque latifoliado; esto concuerda con su estrategia reproductiva manifestada por una mejor germinación en encinares que en pinares (Camacho-Cruz et al., 2000). Las especies *Saurauia oreophila* Hemsl., *Viburnum jucundum* Morton, *C. disciflora* y *Garrya laurifolia* Hartweg. ex Benth., frecuentes bajo dosel forestal con 70-80% de cobertura, donde sus semillas no presentan latencia con numerosas plántulas bajo los individuos adultos; *Oreopanax xalapensis* (HBK.) Dene & Planch, *Hedyosmum mexicanum* Cordemoy, *C. mexicana*, *Persea* sp., *Cleyera theaeoides* (Sw.) Choisy y *Drymis granadensis* L. f., son especies frecuentes bajo dosel muy cerrado (> 90% de cobertura). Estas especies crecen bien en micrositos más húmedos y son sensibles a heladas e insolación (Quintana-Ascencio et al., 1993). Con excepción de *C. disciflora*, las especies citadas están presentes en las cuatro etapas de sucesión ecológica (Tabla 2), esto evidencia la existencia de diversas estrategias reproductivas e invasivas (Kimmins, 1997), explicando el porcentaje de similitud de la riqueza de especies entre el bosque maduro y las etapas de sucesión ecológica evaluadas y la influencia de la cobertura de especies acompañantes que se incrementa conforme avanza el proceso de sucesión.

De acuerdo a lo expuesto en el área de estudio se observa la tendencia de ocupación de las partes más expuestas por las especies templadas y de los sitios más húmedos por las especies tropicales (Meave et al., 1992). Estos dos temperamentos de la diversidad en las distintas etapas de sucesión ecológica, define el alto potencial de restauración del ecosistema btmm del altiplano occidental de Guatemala y una tendencia diferente a la enunciada por Bussman (2005) quien indica que la mayoría de las especies de las etapas de sucesión forestal no corresponde a la diversidad del bosque maduro, factor que aumenta la amenaza al bosque nuboso.

Afinidad florística de los sitios evaluados

Las comunidades florísticas con mayor diversidad de especies en las cuatro etapas (Tablas 1 y 3), se identifican como C3 y C4 para las etapas I y II, C2, C3 y C4 para la etapa III y para la etapa IV como

C2 y C4 en los dendrogramas de la Figura 2. Estas agrupan sitios evaluados en los rangos altitudinales 2,400 a 3,400 m s. n. m., ubicados en las faldas norte y noroeste de la sierra de los Cuchumatanes y en la cadena volcánica. Esta manifestación se debe al acceso dificultoso y baja densidad de caminos en la sierra de los Cuchumatanes y a la existencia de una gobernanza forestal comunitaria que limita el acceso a los bosques de Totonicapán, que pertenecen al área de la cadena volcánica (Asociación de Forestería Comunitaria de Guatemala Utz Che', 2015). También influye la exposición a barlovento de estas comunidades; ya que las montañas actúan como barreras donde se descarga gran parte de la humedad transportada por los vientos de las capas bajas, incrementando la cantidad de lluvia y humedad factores que influyen positivamente en la riqueza de especies del bosque nuboso (Becerra, 2016; López-Mata et al., 2011).

Las comunidades florísticas con diversidad media se identifican en la etapa I como C2 y en la etapa IV como C3, ubicadas entre 2,400 a 3,400 m s.n.m. (Figura 2, Tablas 1 y 3). El rango altitudinal y la luminosidad en la etapa I y la cobertura en la etapa IV, son factores que permiten explicar el nivel de diversidad.

Las comunidades florísticas con menor diversidad de especies se identifican como C1 para las etapas I, III y IV, para la etapa II como C1 y C2 en los dendrogramas de la Figura 2. Agrupan a sitios evaluados en su mayoría se ubicados entre 3,000 a 3,811 m s. n. m. (Figura 1 y Tablas 1 y 3), principalmente en el área de la meseta y falda sur de la sierra de los Cuchumatanes y cadena volcánica con más facilidades de acceso e impacto humano, por la dependencia de los pobladores locales del bosque y agricultura. Este comportamiento en el área, está condicionado por los disturbios generados por comunitarios, fuente más común de alteraciones en el ecosistema (Kimmins, 1997). Consecuencia de cambios en el uso del suelo y destrucción de hábitats (Vilà, 1998), generados por la fragmentación por actividades agropecuarias y la influencia de prácticas silvícolas locales no sostenibles (León-Alfaro, 2019; Medrano Meraz et al., 2017), produciendo comunidades ecológicas muy simples (Badii et al., 2007). Además la altitud y las condiciones de sotavento que genera menor disponibilidad de humedad donde se ubican estas comunidades, influyen negativamente en la diversidad (Becerra, 2016; López-Mata et al., 2011).

La diversidad y abundancia de especies de árboles está influenciada por la variabilidad ambiental atribuida a la altitud, la heterogeneidad topográfica

y variables climáticas (Gallegos et al., 2019; Jadán et al., 2017; Medrano Meraz et al., 2017; Richerson & Lum, 1980). La riqueza de especies se relaciona negativamente con la altitud y positivamente con la disponibilidad simultánea de humedad y calor (Becerra, 2016; López-Mata et al., 2011). Estos hallazgos permiten suponer que la riqueza florística en el área de estudio atiende al mismo patrón de comportamiento enunciado.

Diversidad y riqueza florística potencial para restauración ecológica

La variación del H' entre 0.96 a 3.64, evidencia la tendencia a la variación entre comunidades de la misma etapa y entre etapas, es un comportamiento de la diversidad del btmn que está influenciado por la ubicación altitudinal de las comunidades florísticas en cada etapa (Tabla 3) y los niveles de disturbio evidenciado por la riqueza de especies asociada a la ubicación geográfica. Los valores del J' cercanos a 1, permiten calificar a las 16 comunidades florísticas con una diversidad de especies igualmente abundantes o de máxima uniformidad (Magurran, 2004). Sin embargo el número equivalente o efectivo de especies (1D) presenta un comportamiento que tiende a una mayor equitatividad (Jost, 2018), en las comunidades con riqueza (S) baja en las dos primeras etapas de sucesión que se ubican a mayor altitud. La menor equitatividad predomina en las etapas III y IV con valores de S mayores ubicadas a altitudes entre 2,400 y 3,400 m s. n. m. Este comportamiento indica que las especies tienden a estar igualmente representadas en las comunidades con baja riqueza y en las comunidades con mayor riqueza y mayor diferencia con el indicador 1D , implica una tendencia a la existencia de especies dominantes por su alta abundancia y la mayor parte de la riqueza son poco abundantes o raras (Jost, 2018; Jost & González-Oreja 2012). Este último indicador recomendado para el análisis de diversidad en el trópico permite visualizar el comportamiento de la diversidad a lo largo del gradiente altitudinal y de sucesión con mayor precisión que los índices H' y J' .

De las 20 especies de árboles con mayor valor de IVI, *A. guatemalensis*, *P. hartwegii* y *B. megaloccephala* (Tabla 2), son las tres especies comunes al bosque maduro y las tres etapas de sucesión ecológica (Tabla 3) y se ubican en las áreas de mayor altitud del área de estudio. Las dos últimas reportan alto valor de IVI y presencia en diversas etapas de sucesión ecológica y el bosque maduro de comunidades vegetales de *A.*

guatemalensis en la parte alta de San Marcos (Martínez-Arévalo, 2012, 2016), esta condición permite suponer que son especies que definen el equilibrio dinámico (Curipoma et al., 2018) en las comunidades donde prevalecen. Además cuatro de las cinco especies del género *Quercus* (Tabla 2), están presentes en las tres etapas de sucesión ecológica y el bosque maduro del área estudiada. Especies de este género presentaron mayor supervivencia y crecimiento en altura, diámetro y biomasa de raíces en etapas de sucesión ecológica dominada por *Baccharis vaccinioides* Kunth (Rivas-Rivas et al., 2017), este conocimiento del comportamiento de la regeneración y dispersión de semillas de este género (Marañón et al., 2014), permite sustentar su consideración como especies potenciales para restaurar el btmn (Quezada et al., 2016), junto a las especies de mayor valor de IVI presentes en las diversas etapas de sucesión ecológica en el área de estudio.

El estudio constituye un referente básico al revelar que el ecosistema btmn evaluado se caracteriza por presentar una diversidad de 67 especies de árboles, distribuida en un gradiente altitudinal que varía de 2,400 a 3,811 m s. n. m. Con el 69% de esta diversidad establecida en la etapa de sucesión ecológica I, 60% de especies comunes a las cuatro etapas de sucesión ecológica evaluadas (Tabla 2). El 30% de especies con el mayor valor de IVI distribuidas en las 16 comunidades florísticas diferenciadas (Tabla 3), tienen tendencia a producir grandes cantidades de semillas y/o frutos y con síndromes de dispersión anemócora y zoocora, lo que favorece su éxito de supervivencia. Además se estiman tiempos de transición entre etapas de 3 a 5 años de I a II, 5 a 10 años de II a III y de 15 a 20 años de III a IV, infiriendo un tiempo total de recuperación desde la etapa I a la IV entre 23 a 35 años. Este período estimado es congruente con la recuperación de la diversidad y composición florística de bosques montanos secundarios con rango estimado entre 15 a 30 años (Gayley & Sridith, 2020; Guariguata & Ostertag, 2001; Kappelle, 1996).

La composición florística en las diversas etapas de sucesión en los diferentes sitios estudiados (Figura 2 y Tablas 1, 2 y 3), constituyen la base para la interpretación y la toma de decisiones a nivel local de la trayectoria de los procesos de restauración que deben implementarse. Los que deben fortalecerse desarrollando investigación relacionada con la fenología reproductiva, la identificación del gremio ecológico y las especies funcionales de la diversidad de árboles promisorios. Además será pertinente impulsar la

unión de fragmentos actuando en áreas abiertas aprovechando la existencia de arbustos y árboles aislados y la reconfiguración de fragmentos recuperando los claros y los bordes de estos (Suárez Duque, 2008) y el enriquecimiento de sitios con etapas de sucesión I y II. Aplicar las técnicas de nucleación de lluvia de semillas, siembra directa, transposición de suelos y plantación de especies funcionales en grupos Anderson (Sanchun et al., 2016), utilizando la diversidad de árboles de mayor valor ecológico.

Este conocimiento permitirán reformular la estrategia de restauración del paisaje forestal para este ecosistema propuesta por la Mesa Nacional de Restauración del Paisaje Forestal de Guatemala (2018), a una más acorde a la realidad ecológica, social y cultural de la región. Para contribuir al mantenimiento y recuperación de los atributos generadores de servicios ecosistémicos vitales para los pobladores del altiplano occidental de Guatemala.

Agradecimientos

Esta investigación fue cofinanciada por Digi-Usac (2017), Proyecto: 4.8.63.2; Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente (PUIRNA). A personal de Care por facilitar contactos comunitarios en Totonicapán. A comunitarios, autoridades comunales y guías de campo de los pueblos k'iche', q'anjob'al, ixil y mam, por facilitar acceso a los bosques de propiedad colectiva y compartir el conocimiento tradicional, en una época de incertidumbre y engaño institucionalizado. A Sergio Iván Godínez por su ayuda en la redacción del Abstract.

Referencias

- Aguirre Mendoza, Z., Reyes Jiménez, B., Quizhpe Coronel, W., & Cabrera, A. (2017). Composición florística, estructura y endemismo del componente leñoso de un bosque montano en el sur del Ecuador. *Arnaldoa*, 24(2), 543-556. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24207>
- Armenteras Pascual, D., Cadena Vargas, C., & Moreno Sánchez, R. (2007). *Evaluación del estado de los bosques de niebla y de la meta 2010 en Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Ediprint.
- Asociación de Forestería Comunitaria de Guatemala Utz Che'. (2015). *Los retos y el futuro de la forestería comunitaria frente a la legislación forestal y ambiental de Guatemala* (Proyecto DCI-NSAPVD/2012/308-594). Totonicapán: Unión Europea-Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional.
- Ataroff, M. (2001). Venezuela. En M. Kappelle & A. D. Brown (Eds.), *Bosques nublados del neotrópico* (pp. 397-442). Instituto Nacional de Biodiversidad.
- Ataroff, M. (2002). Precipitación e intercepción en ecosistemas boscosos de los Andes Venezolanos. *Ecotropicos*, 15(2), 195-202.
- Ataroff, M., & Rada, F. (2000). Deforestation impact on water dynamics in a Venezuelan Andean cloud forest. *Ambio*, 29(7), 440-444.
- Badii, M. H., & Ruvalcaba, I. (2007). Sustentabilidad en función de la estabilidad y complejidad. *International Journal of Good Conscience*, 2(1), 71-88.
- Badii, M. H., Landeros, J., & Cerna, E. (2008). Patrones de asociación y sustentabilidad. *International Journal of Good Conscience*, 3(1), 632-660.
- Becerra, P. I. (2016). Relationship between climate and geographical variation of local woody species richness within the Mediterranean-type region of Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 89(12), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s40693-016-0062-x>
- Blanco, J. A. (2017). Bosques, suelo y agua: Explorando sus interacciones. *Ecosistemas*, 26(2), 1-9. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2017.26-2.01>
- Bussmann, R. W. (2005). Bosques andinos del sur de Ecuador, clasificación, regeneración y uso. *Perú Biológico*, 12(2), 203-216.
- Camacho-Cruz, A., González-Espinosa, M., Wolf, J., & de Jong, B. (2000). Germination and survival of tree species in disturbed forest of the highlands of Chiapas, México. *Canadian Journal of Botany*, 78, 1309-1318.
- Cámara Artigas, R., & Díaz del Olmo, F. (2013). Muestreo en transecto de formaciones vegetales de fanerofitos y caméfitos (I): Fundamentos metodológicos. *Estudios Geográficos*, 74(274), 67-88. <https://doi.org/10.3989/estgeogr.201303>
- Castañeda, C. (2008). Diversidad de Ecosistemas de Guatemala. En Consejo Nacional de Áreas Protegidas, *Guatemala y su biodiversidad:*

- Un enfoque histórico, cultural, biológico y económico* (pp. 181-229). Consejo Nacional de Áreas Protegidas.
- Consejo Nacional de Áreas Protegidas. (2011). *Política Nacional de Diversidad Biológica*. <https://www.marn.gob.gt/Multimedios/422.pdf>
- Curipoma, S., Cevallos, D., & Pérez, A. J. (2018). Composición y estructura florística de dos remanentes de Bosque Andino Montano Alto en el volcán Ilaló, Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 39(2), 93-104. <https://doi.org/10.26807/remcb.v39i2.648>
- Egan, P. A., & Price, M. F. (2014). *Las montañas como torres de agua del mundo: Protegiendo el agua y los servicios ecosistémicos de montaña ante el cambio climático*. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura-Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales.
- Gallegos, S. C., Zenteno-Ruiz, F. S., Beck, S. G., & López, R. P. (2019). Diversidad arbórea del bosque tucumano-boliviano en la alta cuenca del río Bermejo (Tarija, Bolivia). *Ecología en Bolivia*, 1, 18-39.
- Gayley, K., & Sridith, K. (2020). The vegetation status of regrowth forest in abandoned farmalands in the subtropical forest Eastern Bhutan Himalaya. *Taiwania*, 65(3), 336-347. <https://doi.org/10.6165/tai.2020.65.336>
- Gentry, A. H. (1982). Neotropical floristic diversity: Phytogeographical connections between Central and South América, pleistocene climatic fluctuations, or accident of the Andean orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 69(3), 557-593. <https://doi.org/10.2307/2399084>
- Girardin, C. A., Malhi, Y., Feeley, K. J., Rapp, J. M., Silman, M. R., Meir, P., Huaraca Huasco, W., Salinas, N., Mamani, M., & Aragao, L. O. (2014). Seasonality of above-ground net primary productivity along an Andean altitudinal transect in Peru. *Journal of Tropical Ecology*, 1-17. <https://doi.org/10.1017/S0266467414000443>
- Godínez, S. M., Rodríguez, F. A., López, N. P., & Camposeco, J. (2016). Evaluación de la regeneración natural de tres especies coníferas en áreas de distribución natural en el altiplano occidental de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(1), 5-16. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v3i1.119>
- Godínez, S. M., Basilio Juárez, I. M., De León, V. H., & Mendoza, H. (2017). *Identificación de especies de árboles y arbustos del ecosistema bosque tropical montano nuboso en etapas de restauración ecológica forestal en el altiplano occidental de Guatemala* (Inf-2017-26). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación y Centro Universitario de Noroccidente.
- González-Espinosa, M., Meave, J. A., Ramírez-Marcial, N., Toledo-Aceves, T., Lorea-Hernández, F. G., & Ibarra-Manríquez, G. (2012). Los bosques niebla de México: Conservación y restauración de su componente arbóreo. *Ecosistemas*, 21(1-2), 36-52.
- Graciano-Ávila, G., Aguirre-Calderón, O. A., Alanís-Rodríguez, E., & Lujan-Soto, J. E. (2017). Composición, estructura y diversidad de especies arbóreas en un bosque templado del Noroeste de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(12), 535-542. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1114>
- Guariguata, M. R., & Ostertag, R. (2001). Neotropical secondary forest succession: Changes structural and functional characteristics. *Forest Ecology and Management*, 148, 185-206. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00535-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00535-1)
- Guerrero, E., De Keizer, O., & Córdoba, R. (2006). *La aplicación del Enfoque Ecosistémico en la gestión de recursos hídricos*. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales-Sur.
- Hamilton, L. S. (1995). Mountain cloud forest conservation and research: A synopsis. *Mountain Research and Development*, 15(3), 259-266.
- Hamilton, L. S. (2009). *Los bosques y el agua: estudio temático elaborado en el ámbito de la evaluación de los recursos forestales mundiales 2005* (Vol. Estudio FAO: Montes 155). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Hamilton, L. S., Juvik, J. O., & Scatena, F. N. (1995). *Tropical Montane Cloud Forest*. Springer.
- Jadán, O., Toledo, C., Tepán, B., Cedillo, H., Peralta, A., Zea, P., Castro, P., & Vaca, C. (2017). Comunidades forestales en bosques secundarios

- alto-andinos (Azuay, Ecuador). *Bosque*, 38(1), 141-154. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000100015>
- Jost, L. (2018). ¿Qué entendemos por diversidad? el camino hacia la cuantificación. *Mètode Science Studies Journal*, 39-45. <https://doi.org/10.7203/metode.9.11472>
- Jost, L., & González-Oreja, J. A. (2012). Midiendo la diversidad biológica: Más allá del índice de Shannon. *Acta Zoológica Lilloana*, 56(1-2), 3-14.
- Kappelle, M. (1996). *Los bosques de roble (Quercus) de la Cordillera de Talamanca, Costa Rica: biodiversidad, ecología, conservación y desarrollo*. Universidad de Amsterdam-Instituton Nacional de Biodiversidad.
- Kimmins, J. (1997). *Forest Ecology a foundation for sustainable management*. Prentice Hall.
- Krebs, C. J. (1996). *Ecological Methodology*. University of Chicago Press.
- Ledo, A. (2013). Tratado sobre la distribución espacial de las especies leñosas de un bosque de niebla tropical. *Ecosistemas*, 22(1), 77-79. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2013.22-1.16>
- León-Alfaro, J. (2019). Análisis de fragmentación y conectividad del bosque en la subcuenca del río Tapezco, Costa Rica: Conectando el bosque para proteger el agua. *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía*, 28(1), 102-120. <https://doi.org/10.15446/rcdg.v28n1.67969>
- López-Mata, L., Villaseñor, J. L., Cruz-Cárdenas, G., Ortiz, E., & Ortiz-Solorio, C. (2011). Predictores ambientales de la riqueza de especies de plantas del bosque húmedo de montaña de México. *Botanical Sciences*, 90(1), 27-36.
- Magurran, A. E. (2004). *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing.
- Marañón, T., Padilla Díaz, C. M., Pérez Ramos, I. M., & Villar, R. (2014). Tendencias en la investigación sobre ecología y gestión de las especies de Quercus. *Ecosistemas*, 23(2), 124-129. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-2.16>
- Margalef, R. (1972). Homage to E. Hutchison, or why is there an upper limit to diversity. *Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences*, 44, 211-235.
- Martella, M. B., Trumper, E. V., Bellis, L. M., Renison, D., Giordano, P. F., Bazzano, G., & Gleiser, R. M. (2012). Manual de ecología evaluación de la biodiversidad. *Reduca (Biología)*, 5(1), 71-115.
- Martínez Arévalo, J. V. (2012). Sucesión y restauración ecológica en las partes altas de cuencas y la provisión de agua. *Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 21(No. Especial), 35-39.
- Martínez-Arévalo, J. V. (2016). Los bosques de *Abies guatemalensis* Rehder de San Marcos, Guatemala: Una oportunidad para su restauración ecológica. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(1), 27-46. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v3i1.188>
- Mateucci, S. D., & Colma, A. (1982). *Metodología para el estudio de la vegetación*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.
- McDonald, G. M. (2003). *Biogeography: Space, Time, and Life*. John Wiley & Sons.
- Meave, J., Soto, M. A., Calvo Irabien, L. M., Paz Hernández, H., & Valencia Avalos, S. (1992). Análisis sinecológico del bosque mesófilo de montaña de Omiltemi, Guerrero. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (52), 31-77. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1404>
- Medrano Meraz, M., Hernández, F. J., Corral Rivas, S., & Nájera Luna, J. A. (2017). Diversidad arbórea a diferentes niveles de altitud en la región de El Salto, Durango. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(40), 57-68.
- Mesa Nacional de Restauración del Paisaje Forestal de Guatemala. (2018). *Oportunidades de restauración del paisaje forestal en Guatemala*.
- Mesa de Restauración del Paisaje Forestal. (2015). *Estrategia Nacional de Restauración del Paisaje Forestal: Mecanismo para el desarrollo rural sostenible de Guatemala 2015-2045*. <https://www.marn.gob.gt/Multimedios/1238.pdf>
- Mijares Santana, F. J., & Pérez-Buitrago, N. (2019). Estudio florístico y estructural de un zural boscoso en el municipio de Arauca, Colombia. *Colombia Forestal*, 22(1), 37-50. <https://doi.org/10.14483/2256201X.13237>
- Monterroso-Rivas, A. I., Gómez-Díaz, J. D., & Tinoco-Rueda, J. A. (2012). Bosque mesófilo de montaña y escenarios de cambio climático. *Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 29-43. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.03.029>
- Mora-Donjuán, C. A., Burbano-Vargas, O. N., Méndez-Osorio, C., & Castro-Rojas, D. F. (2017).

- Evaluación de la biodiversidad y caracterización estructural de un bosque de Encino (*Quercus L.*) en la Sierra Madre del Sur, México. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 14(35), 68-75. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v14i35.3154>
- Moreno, C. E. (2001). *Métodos para medir la diversidad biológica* (M&T-Manuales y Tesis SEA, vol.1). Sociedad Entomológica Aragonesa.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2016). *El Estado de los bosques del mundo 2016. Los bosques y la agricultura: Desafíos y oportunidades en relación con el uso de la tierra*.
- Orozco, L., & Brumér, C. (2002). *Inventarios forestales para bosques latifoliados en América Central* (Vol. Serie técnica. Manual técnico/ CATIE; n°.50). Centro Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Pla, L. (2006). Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583-590.
- Price, M. F., Gratzner, G., Duguma, L. A., Kholer, T., Maselli, D., & Romeo, R. (2011). *Mountain Forests in a Changing World - Realizing Values*. Food and Agricultural Organization of the United Nations and Swiss Agency for Development and Cooperation.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2016). *Más allá del conflicto, luchas por el bienestar. Informe Nacional de Desarrollo Humano 2015/2016*.
- Quezada, M. L., Rodas-Duarte, R., & Marroquín-Tintí, A. A. (2016). Contribución al conocimiento de los encinos (*Quercus*: Fagaceae) en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz y Petén, Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 3(2), 115-126. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v3i2.153>
- Quintana-Ascencio, P. F., Ramírez-Marcial, N., González-Espinoza, M., & Martínez-Icó, M. (2004). Sapling survival and growth of conifer and broad-leaved trees in successional habitats in the highlands of Chiapas, México. *Applied Vegetation Science*, 7, 81-88.
- Quintana-Ascencio, P. F., & González-Espinoza, M. (1993). Afinidad fitogeográfica y papel sucesional de la flora leñosa de los bosques de pino-encino de los Altos de Chiapas, México. *Acta Botánica Mexicana*, 21, 43-57. <https://doi.org/10.21829/abm21.1993.667>
- Ramírez-Marcial, N., Camacho-Cruz, A., González-Espinoza, M., & López-Barrera, F. (2006). Establishment, survival and growth of tree seedling under sucesional montane oak forests in Chiapas, México. En M. Kappelle (Ed.), *Ecology and conservation of neotropical oak forests* (Ecological Studies N°. 185, pp. 177-189). Springer.
- Ramos Franco, A., & Armenteras Pascual, D. (2019). Interceptación y escorrentía del bosque Altoandino en la Reserva Forestal Protectora "El Malmo". *Acta Biológica Colombiana*, 24(1), 97-108. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n1.67039>
- Rasal-Sánchez, M., Troncos-Castro, J., Lizano-Durán, C., Parihuamán-Granda, O., Quevedo-Calle, D., Rojas-Idrogo, C., & Delgado-Paredes, G. (2012). La vegetación terrestre del bosque montano de Lanchurán (Piura, Perú). *Caldasia*, 34(1), 1-24.
- Richerson, P. J., & Lum, K. (1980). Patterns of Plant Species Diversity in California: Relation to Weather and Topography. *American Naturalist*, 116(4), 504-536.
- Rivas-Rivas, M. B., Ramírez-Marcial, N., Perales, H., Levy-Tracher, S. I., & Bonfil, C. (2017). Survival and growth of three *Quercus* species under contrasting coverage conditions in southern México. *Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(2), 275-288. <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.01.001>
- Rojas-B., S. L. (2017). Estructura y composición florística de la vegetación en proceso de restauración en los Cerros Orientales de Bogotá (Colombia). *Caldasia*, 39(1), 124-139. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v39n1.60084>
- Sanchun, A., Botero, R., Morera Beita, A., Obando, G., Russo, R. O., Scholz, C., & Spinola, M. (2016). *Restauración funcional del paisaje rural: Manual de técnicas*. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.
- Sans, F. X. (2007). La diversidad de los agroecosistemas. *Ecosistemas*, 16(1), 44-49.
- Santiago-Pérez, A. L., Jardel Peláez, E. J., Cuevas-Guzmán, R., & Huerta-Martínez, F. M. (2009). Vegetación de bordes en un Bosque Mesófilo de

- Montaña del Occidente de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 8(5), 31-40.
- Sardi, A., Torres, A. M., & Corredor, G. (2018). Diversidad florística en un paisaje rural del piedemonte de los Farallones de Cali, Colombia. *Colombia Forestal*, 21(2), 142-160. <https://doi.org/10.14483/2256201X.10866>
- Sayre, R., Roca, E., Sedaghatkish, G., Young, B., Keel, S., Roca, R., & Sheppard, S. (2002). *Un enfoque en la naturaleza: Evaluaciones ecológicas rápidas*. En M. Martínez (Trad.). The Nature Conservancy.
- Scatena, F. N., Bruijnzeel, L. A., Bubb, P., & Das, S. (2010). Setting the stage. En L. A. Bruijnzeel, F. N. Scatena & L. S. Hamilton, *Tropical Montane Cloud Forest: Science for Conservation and Management* (pp. 3-11). Cambridge University Press.
- Sociedad Norteamericana de Ecología. (1999). La biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas: Manteniendo los procesos naturales que sustentan la vida. *Tópicos en Ecología*, (4), 1-13.
- Standley, P., & Steyermark, J. (1947/1977). *Flora of Guatemala* (Fieldiana Botany, v. 24). Field Museum of Natural History.
- Suárez Duque, D. (2008). Formación de un corredor de hábitat de un bosque montano alto en un mosaico de páramo en el norte de Ecuador. *Ecología Aplicada*, 7(1,2), 9-15.
- The Plant List. (2013). Versión 1.1. <http://www.theplantlist.org/>
- Universidad Nacional de Córdoba. (s.f.). *InfoStat* [software estadístico]. Recuperado el 07/10/2018 de <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=34>
- Vilà, M. (1998). Efectos de la diversidad de especies en el funcionamiento de los ecosistemas. *Orsis*, 13, 105-117.
- Villamagua Vergara, G. C. (2017). Percepción social de los servicios ecosistémicos en la microcuenca El Padmi, Ecuador. *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*, 27, 102-114.
- Villareal, H., Álvarez, M., Córdova, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., Méndoza, H., Ospina, M., & Umaña, A. M. (2004). *Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad*. Programa de Inventarios de Biodiversidad, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Walte-Vega, J. K., García-Romero, A., Manzo-Delgado, L. L., & López-García, J. (2017). Factores de distribución de las comunidades del bosque húmedo de montaña. Volcán Cofre del Perote, México. *Bosque*, 38(1), 39-39. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000100004>
- Williams-Linera, G. (2012). *El bosque de niebla en el centro de Veracruz: Ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Fenología reproductiva de *Prunus lundelliana* Standl. (Rosaceae), un árbol en peligro de extinción con potencial para restaurar bosques nubosos de Mesoamérica

Reproductive phenology of Prunus lundelliana Standl. (Rosaceae), an endangered tree with potential to restore cloud forests of Mesoamerica

Javier A. Rivas-Romero^{*1,2,3}, Jacob J. Alvarez-Requena^{1,3}, Vinicio Bravo-Santizo⁴

¹Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, ²Escuela de Biología, y ³Centro de Estudios Conservacionistas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala; ⁴Asociación de Desarrollo Agroforestral Integral Sostenible

*Autor al que se dirige la correspondencia: rivas.javier@usac.edu.gt

Resumen

Recibido: 15 de enero 2020 / Revisión: 29 de octubre 2020 / Aceptado: 01 de marzo 2021

La fenología estudia los cambios estacionales en los ciclos de vida de los organismos. Una utilidad de la fenología, es que permite establecer periodos en que se pueden coleccionar semillas para programas de restauración ecológica. Por lo que, de abril de 2017 a mayo de 2019, en el volcán Tacaná, San Marcos, Guatemala, se estableció la estacionalidad, variación anual, sincronía, intensidad y duración de las fenofases reproductivas de *Prunus lundelliana* Standl. Aproximadamente cada 15 días, en 10 individuos se registró la presencia e intensidad de las flores (botones y abiertas) y frutos (inmaduros y maduros). Los datos se analizaron con estadística circular, encontrándose que todas las fenofases fueron estacionales y que solo el patrón de los frutos inmaduros varió significativamente entre los dos periodos. La sincronía fue principalmente alta y la intensidad no superó el 40%. En ambos periodos las intensidades menores las presentaron los frutos maduros (17 y 25%). Los índices de actividad e intensidad se correlacionaron significativamente, por lo que los ángulos medios fueron semejantes en las fenofases y periodos de estudio. Los picos de actividad-intensidad de las flores abiertas y de los frutos maduros ocurrieron durante los meses secos (noviembre-abril), patrón que se ha registrado en otros bosques nubosos. La duración de las fenofases varió entre 2.5-3.5 meses, siendo la más pequeña la de frutos maduros. Para fines de manejo, la colecta de frutos maduros puede hacerse desde mediados de marzo hasta finales de mayo, sin embargo, se sugiere hacerlo principalmente entre el 15 de abril y el 15 de mayo.

Palabras claves: Volcán Tacaná, fructificación, floración, índice de Fournier, Guatemala

Abstract¹

Phenology studies the seasonal changes in the life cycle of organisms. Phenological data allow to set the periods in which the seeds can be collected for ecological restoration programs. From April, 2017 to May, 2019, in Tacaná volcano, San Marcos, Guatemala, it was established the seasonality, annual variation, synchrony, intensity, and duration of the reproductive phenophases of *Prunus lundelliana* Standl. About every 15 days, 10 individuals were observed and it was recorded the presence and intensity of flowers (buds and blossom flowers) and fruits (immature and mature fruits). The data was analyzed with circular statistics, finding that all the phenophases were seasonally distributed and only the immature fruits pattern significantly varied between the two periods. The synchrony was mainly high and the intensity did not exceed 40%. In both of the study periods, the lesser intensities were presented by the mature fruits (17 and 25%). The activity and intensity indexes were significantly correlated; therefore the mid angles were alike in the phenophases and study periods. The activity-intensity highs of blossom flowers and of mature fruits happened in the dry months (November to April), a pattern that has been registered in other cloud forests. The duration of the phenophases ranged from 2.5 to 3.5 months, being the shortest the mature fruits phenophase. For environmental management purposes, the collection of mature fruits can be done from the middle of March to the end of May, nonetheless, it should be done mainly between April 15th and May 15th.

Keywords: Tacaná volcano, fruiting, flowering, Fournier index, Guatemala

¹Resultados parciales se presentaron en el III Congreso Nacional del Cambio Climático. Partial results were presented at the III National Congress of Climate Change.



Introducción

El término fenología fue utilizado por primera vez por el botánico belga Charles Morren alrededor de 1850 (Demarée & Rutishauser, 2011) y se refiere al estudio de los eventos recurrentes que sufren los organismos y su relación con factores bióticos y abióticos (Lieth, 1974). Conocer los patrones fenológicos de los organismos fue de gran importancia para los grupos cazadores-recolectores, ya que necesitaban conocer los momentos y lugares donde las especies de su interés estarían presentes y/o producirían las estructuras que recolectaban (Schwartz, 2013). Sin embargo, fue hasta finales del siglo XX cuando el interés científico se hizo más evidente, principalmente por los efectos que el cambio climático puede tener en los ciclos de vida de los organismos (Cleland et al., 2007; Parmesan, 2007).

Los estudios fenológicos se han realizado mayormente en áreas templadas (Schwartz, 2013), por lo que varios investigadores destacan la necesidad de generar datos fenológicos de especies tropicales, en regiones y ecosistemas poco estudiados, como la mesoamericana y los bosques de montaña (Inouye & Wielgolaski, 2013; Mendoza et al., 2017; Morellato et al., 2013). Entre estos ecosistemas, destacan los bosques nubosos, que son especialmente susceptibles al cambio climático (Golicher et al., 2012).

Los bosques nubosos son reconocidos por la alta diversidad biológica que poseen y los importantes servicios ambientales que proveen (Eisermann & Schulz, 2005; Holder, 2006; Matson et al., 2012; Sánchez-Ramos & Dirzo, 2014; Schuster et al., 2000). Durante muchos años estos bosques han sido perturbados, fragmentados y/o convertidos en áreas agrícolas o de pastoreo, sin embargo, algunas de estas áreas han sido abandonadas y se requiere su restauración a través de diferentes estrategias, entre las cuales está la siembra de especies nativas al bosque original (Aide et al., 2010; Jardel et al., 2014; Ramírez-Marcial et al., 2008).

Las especies amenazadas deberían ser una parte importante de los proyectos de restauración, no solo en los lugares donde actualmente crecen o crecieron en el pasado reciente, sino en cualquier localidad de su rango de distribución potencial. Una de las razones para no usarlas ha sido la carencia de grandes cantidades de semillas, así como el desconocimiento de su biología reproductiva y de los métodos de propagación y siembra (Volis, 2016). Una de las utilidades de establecer los patrones fenológicos de las plantas es que se puede saber con precisión cuando hay disponibilidad

de semillas en cantidad y calidad, lo que permite planificar de mejor forma su cosecha para los programas de restauración, y de manejo y conservación forestal (Buisson et al., 2017; Kettle, 2012; Montagnini, 2005; Newton, 2011; Núñez-Cruz et al., 2018; Ochoa-Gaona et al., 2008).

Por ello, en este estudio se planteó determinar las fenofases reproductivas de *Prunus lundelliana* Standl. (cercillo) (Figura 1), una especie considerada en peligro de extinción (Ramírez-Marcial & González-Espinosa, 2011), que se distribuye principalmente en bosques nubosos de Chiapas (México) y Guatemala entre 1,275-2,100 m s. n. m., aunque también con registros en otros estados del sureste de México, Honduras y El Salvador (Pérez-Zabala, 2014; Standley & Steyermark, 1946; Villaseñor, 2016).

La información generada en este estudio, permitirá recolectar sus semillas para su posterior propagación en viveros que produzcan plantas para programas de restauración. En específico se analizó: (a) estacionalidad, (b) variación anual, (c) sincronía (índice de actividad), (d) intensidad (índice de Fournier) y (e) duración principal, de cada fenofase reproductiva

Materiales y Metodos

Área de estudio

El estudio se realizó en el volcán Tacaná y su área de influencia, específicamente en los bosques nubosos del parque municipal Canjulá y de la aldea Vega del Volcán, municipio de Sibinal, departamento de San Marcos, ambos aproximadamente a 2,700 m s. n. m. (Figura 2).

El volcán Tacaná (latitud 15.131667° N, longitud -92.108333° W) sirve de límite entre México y Guatemala, es el segundo volcán más alto de Guatemala y de Centroamérica en general (Gall, 1983). En Guatemala este volcán y su área de influencia abarcan 31.50 km², de los cuales 29.7% (9.35 km²) corresponden a la Zona de Veda Definitiva. Altitudinalmente va desde 2,250 m s. n. m. en la aldea Chocabj hasta 4,092.63 m s. n. m. en la cumbre del volcán. La vegetación dominante por debajo de 2,800 m s. n. m. es latifoliada del tipo nuboso, entre 2,800 y 3,100 m s. n. m. se encuentra vegetación mixta y la parte superior del volcán es dominada por coníferas (principalmente *Pinus hartwegii* Lindl.) (Rivas, 2015). La temperatura media anual registrada en la estación “San Marcos” que se localiza en el municipio de San Marcos (latitud 14.954167°

Figura 1

Estructuras reproductivas de Prunus lundelliana. (a) botones florales, (b) flores abiertas, (c) frutos inmaduros, (d) frutos maduros



N, longitud -91.809444° W; 2,420 m s. n. m.), es de 13.5°C y la precipitación media anual de 1,639.14 mm (valores medios calculados de los registros de 2010-2017). La temporada seca inicia en noviembre y finaliza en febrero (< 30 mm) y la lluviosa de mayo a octubre; marzo y abril se consideran transicionales con precipitaciones menores a 100 mm. Esta estación es la más cercana al área de estudio (aproximadamente a 35 km) y es administrada por el Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología.

Método

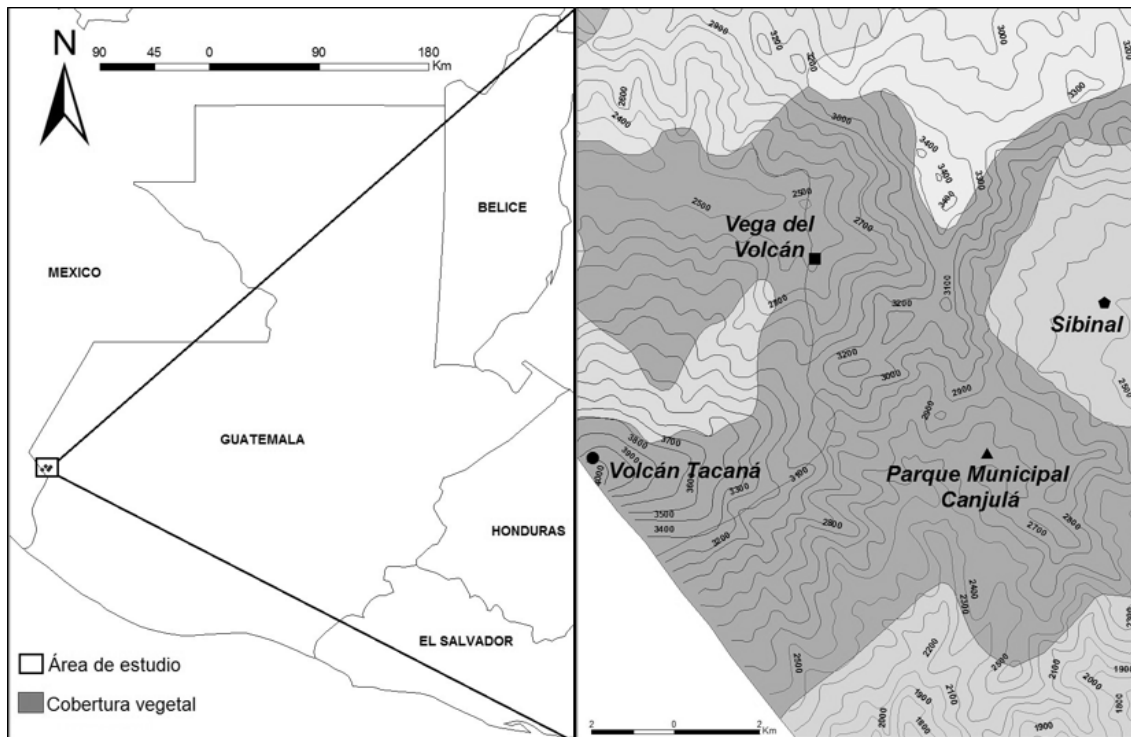
A la orilla de senderos del bosque del parque municipal Canjulá y de la aldea Vega del Volcán, se seleccionaron 10 árboles adultos de *P. lundelliana* que tuvieran la copa visible y un diámetro a la altura del pecho igual o mayor a 10 cm ($\text{DAP} \geq 10$ cm). Diez

individuos es una muestra aceptable si el monitoreo es frecuente (como fue en este estudio) (Morellato, Camargo et al., 2010).

Para su identificación, cada individuo se marcó con pintura de aceite y se le asignó un código (las coordenadas y medidas de los árboles monitoreados se presentan en archivos complementarios).

Se siguió el método sugerido por Morellato, Camargo y colaboradores (2010), en el cual con la ayuda de binoculares (9 X 45), aproximadamente cada 15 días (14.2 ± 1.7 días; rango 11-19 días), de abril de 2017 a mayo de 2019 (con excepción de septiembre de 2017, abril de 2018 y mayo de 2018 cuando el registro fue mensual, y junio de 2018 y diciembre de 2018 donde no fue posible realizarlo) se registraron las fenofases reproductivas (botones florales, flores abiertas, frutos inmaduros y frutos maduros) que presentaron los individuos.

Figura 2
Ubicación de las localidades de estudio



Para establecer si las fenofases se distribuyen estacionalmente se aplicó estadística circular (Morellato, Alberti et al., 2010; Zar, 1999), utilizando el programa Oriana 4.02 (Kovach, 2011). Para ello las fechas de las observaciones se convirtieron a ángulos con intervalos de 15° aproximadamente (el ángulo exacto dependió de la fecha de la observación, que fue cada 11-19 días), utilizando la fórmula $a = 360X/k$, donde a es la dirección angular en grados, X es el día del año correspondiente a la fecha de observación y k es el tiempo total de un ciclo completo; para este caso un año o 365 días. Los parámetros calculados fueron: ángulo medio (\bar{a}), longitud del vector medio (r), desviación angular y los límites de confianza de \bar{a} (Zar, 1999). El ángulo medio corresponde al centro del periodo de ocurrencia de cada fenofase. La longitud del vector medio indica la concentración temporal de la actividad fenológica alrededor del ángulo medio y permite determinar si los eventos fenológicos se distribuyen uniformemente a lo largo del año o si lo hacen estacionalmente (Morellato, Alberti et al., 2010). Para confirmar la estacionalidad anual, se realizó la prueba Z de Rayleigh, que establece la significancia del ángulo medio.

Para determinar si los patrones fenológicos variaron entre los periodos muestreados, se aplicó la prueba F de Watson-Williams (Zar, 1999).

De acuerdo con la cantidad de individuos que presentó una determinada fenofase, se calculó el índice de actividad (IA) (sincronía) propuesto por Bencke y Morellato (2002b). Este índice muestra la proporción de individuos que presenta determinada fenofase en una población en un tiempo determinado; cuando menos del 20% de los individuos manifiestan la fenofase, se considera que hay asincronía, cuando la fenofase ocurre entre el 21 y 60% de los individuos, se considera que la sincronía es baja, mientras que cuando más del 60% de los individuos presentan la fenofase, la sincronía es alta.

Además, se cuantificó la intensidad de cada fenofase mediante la ponderación sugerida por Fournier (1978), la cual va de cero a cuatro (0: ausencia, 1: 1-25%; 2: 26-50%; 3: 51-75%, 4: 76-100% de actividad en cada fenofase). Para estimar el índice de Fournier (FI) en porcentaje (intensidad de la fenofase) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%FI = \left[\sum_{i=1}^n \frac{xi}{n * 4} \right] * 100$$

Donde n es el número de individuos muestreados y xi es el valor asignado a cada individuo i en la escala de 0 a 4 (Morellato, Camargo et al., 2010).

Los índices de actividad y de intensidad de Fournier proporcionan información distinta y complementaria, optimizan la recopilación de los datos y hacen que el análisis e interpretación de los patrones fenológicos sea más simple y directo (Bencke & Morellato, 2002a). El índice de actividad es un valor objetivo que es rápida y fácilmente obtenido en campo, mientras que el índice de intensidad es subjetivo y requiere entrenamiento para su obtención, pero posibilita identificar los picos de actividad. Para estimar la relación estadística entre ambos índices se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman (r_s).

La duración principal de cada fenofase se estableció a partir del valor del ángulo medio (\bar{a}) ± 1 desviación estándar, para que abarcara el 68% del periodo de actividad de cada estructura reproductiva. Para indicar los periodos, los valores angulares de \bar{a} y de la desviación estándar se convirtieron en fechas a través de esta fórmula $X = \bar{a}k/360$, donde X es el día del año y k es el tiempo total de un ciclo completo, es decir, 365 días

Resultados

En ambos periodos de estudio (abril de 2017 a marzo de 2018 y abril de 2018 a mayo de 2019) todas las fenofases se distribuyeron estacionalmente (Tabla 1). Los valores más altos de r los presentaron los frutos maduros (.81 para la intensidad en el primer periodo y .74 para la actividad en el segundo). Todos los valores de r fueron significativos (Z de Rayleigh, $p < .001$).

La prueba F de Watson-Williams indica que únicamente la fenofase fruto inmaduro fue significativamente diferente en los dos periodos de estudio ($p < .05$). En el resto de fenofases, aunque hubo diferencias en el ángulo medio (\bar{a}), no fueron significativas (Tabla 1).

En el ángulo medio la sincronía de la mayoría de las fenofases fue alta, a excepción de los botones florales y los frutos maduros del periodo abril de 2018 a mayo de 2019 donde fue baja, aunque hay que considerar que durante este periodo, dos de los individuos no desarrollaron estructuras reproductivas (Figuras 3 y 4).

En cuanto a la intensidad, en el ángulo medio, la misma en general no superó el 40%. La intensidad menor se registró en los frutos maduros del primer periodo, donde solo alcanzó 17.5%, mientras que el porcentaje mayor lo mostraron las flores abiertas en el segundo periodo con 37.5% (Figuras 3 y 4).

Como las gráficas (Figuras 3 y 4) sugerían semejanza entre los porcentajes de actividad e intensidad, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman (r_s) para evidenciar estadísticamente dicha tendencia (Tabla 2). Todas las correlaciones fueron positivamente significativas, por lo que los ángulos medios (\bar{a}) fueron semejantes en todas las fenofases y periodos de estudio (Tabla 1). En el caso de los botones florales (Figura 3a), los picos de actividad-intensidad ocurrieron al final de la temporada lluviosa (octubre), y los de las flores abiertas (Figura 3B) al final de la primera parte de la temporada seca (diciembre). En el caso de los frutos inmaduros (Figura 4A), donde hubo diferencia significativa entre los periodos de estudio, en el primer periodo los picos de actividad-intensidad se registraron al final de la temporada seca (febrero), mientras que, en el segundo periodo en marzo, que es cuando ocurre la transición entre la temporada seca y la lluviosa. Por su parte, los picos de actividad-intensidad de los frutos maduros (Figura 4B) fueron al inicio de la temporada lluviosa (abril-mayo).

Para establecer la duración principal de cada fenofase, se tomó la definida por el índice de intensidad de Fournier, ya que en general presentó los valores más altos de r y los menores de desviación estándar (SD) (Tabla 1). La duración de los botones florales fue de 3 meses (septiembre-noviembre), al igual que la de las flores abiertas (noviembre-enero). Para los frutos inmaduros, la duración principal fue de 3.5 meses en ambos periodos de estudio, con la diferencia que en el primer periodo estuvieron presentes principalmente de mediados de diciembre hasta marzo, y en el segundo periodo desde febrero hasta mediados de mayo. Los frutos maduros fueron los que presentaron una duración menor (2.5 meses), la cual fue de mediados de marzo hasta mayo (Tabla 1).

Discusión

El género *Prunus* posee aproximadamente 450 especies, las cuales se encuentran principalmente en zonas templadas de América del norte y Eurasia (Pérez-Zabala, 2014), donde en general presentan

patrones fenológicos estacionales (Koike et al., 2008; Thompson & Willson, 1979) y con poca variación interanual (Jeanneret & Rutishauser, 2010; Taylor, 1974) tal como lo encontrado en la mayoría de las fenofases de *P. lundelliana*. Sin embargo, hay especies que no siguen este patrón (Fidalgo, 2019; Heiling & Gilbert, 2016) y otras donde el cambio climático está provocando variaciones (Doi, 2007; Kai et al., 1993; Primack et al., 2009).

Aunque el ángulo medio de los frutos inmaduros fue significativamente diferente entre los periodos de estudio, el patrón general de esta fenofase se mantuvo durante los dos periodos, es decir, los primeros frutos inmaduros aparecieron en octubre y los últimos mediados de mayo (Figura 4A), por lo que es probable que la tendencia sea a no variar entre años, tal como lo mostraron las otras fenofases. Esto podría comprobarse si se ampliara el monitoreo fenológico durante más años (por lo menos cinco), tal como lo recomiendan Morellato y colaboradores (2018) y Sakai y Kitajima (2019). Morellato y colaboradores (2018) afirman que monitoreos a largo plazo generan datos que permiten establecer claramente los ciclos fenológicos de las plantas, así como los factores que desencadenan las fenofases y la respuesta de las plantas al cambio climático.

La alta sincronía que mostró *P. lundelliana* en la mayoría de fenofases puede ser una estrategia para aumentar su éxito reproductivo, al permitir que sus polinizadores y dispersores accedan a sus recursos (néctar y frutos) en la mayoría de los individuos de la población al mismo tiempo, lo cual ha sido documentado en varias especies y ecosistemas. Por ejemplo Boulay y colaboradores (2007) lo hicieron en el sur de España, en la planta mirmecocora *Helleborus foetidus* L.; López de Buen y Ornelas (2001) en el muerdago *Psittaranthus schiedeanus* (Schltdl. & Cham.) Blume ex Schult. en un remanente de bosque mesofilo de montaña en el centro de Veracruz, México; Pires y colaboradores (2014) en *Senefeldera verticillata* (Vell.) Croizat en el interior de fragmentos de bosque cercanos a claros para gasoductos y líneas eléctricas ubicados en una selva tropical de tierras bajas en el su- reste de Brasil, y Rodríguez-Pérez y Traveser (2016) en *Hypericum balearicum* L. en dos localidades de las Islas de Mallorca, España. Esto cobra mayor relevancia en el caso de los frutos maduros, donde la producción fue baja (índice de intensidad 17.5% en el primer periodo y 25% en el segundo periodo), por lo que cuantos más individuos presenten frutos, mayor será la probabilidad de que los mismos sean consumidos y posteriormente dispersados.

Baja producción de frutos también ha sido documentada en otras especies de *Prunus* (Guitian, 1993; Sutherland & Delph, 1984). En el caso de *Prunus mahaleb* L., se considera que este patrón está asociado a las hipótesis del aborto selectivo y a la de conservación de ovarios; la primera plantea que pocos frutos maduran porque cuando están inmaduros, muchos son de baja calidad y para no aportarles más recursos, son abortados, mientras que la segunda postula que las plantas producen muchas flores con la intención de tener una reserva de ovarios en caso de que si ocurre alguna perturbación durante la floración, se podrá garantizar una producción mínima de frutos (Guitian, 1993, 1994). Aunque en *P. lundelliana* la producción de flores no fue mucho mayor a la de frutos maduros, si convendría evaluar si algunas de estas dos hipótesis u otros factores explican la baja producción de frutos maduros.

Ramírez-Marcial y colaboradores (2003) e Ibarra-Manríquez y colaboradores (2015) son los únicos que proporcionan datos sobre los periodos de floración y fructificación de *P. lundelliana*, los primeros reporta la floración de septiembre a octubre y la fructificación de febrero a marzo, mientras que los segundos solo la fructificación en marzo; ninguno de estos periodos incluyen los picos de actividad-intensidad encontrados para estas fenofases en el estudio, sin embargo, si coinciden parcialmente con los periodos registrados (Figuras 3B y 4B), principalmente para la fructificación. Tales diferencias pueden deberse a dos razones, la primera es que la información fenológica no es el énfasis en ninguna de las dos publicaciones, y la segunda a que los datos fenológicos aportados por Ramírez-Marcial y colaboradores (2003) son para una amplia área del estado de Chiapas y los de Ibarra-Manríquez y colaboradores (2015) se circunscriben a la región de Los Tuxtlas, en el estado de Veracruz (México), donde las condiciones climáticas difieren de las encontradas en el área de estudio. Aun así, es probable que *P. lundelliana* presente patrones fenológicos similares en otras localidades con condiciones climáticas y topográficas similares a las presentes en el área de estudio, aunque esto debe confirmarse realizando más estudios.

Los picos de actividad-intensidad de las flores abiertas y de los frutos maduros coinciden con los mostrados por las plantas de otros bosques nubosos de la región, donde ambas fenofases ocurren principalmente durante los meses secos o con poca precipitación (Camacho & Orozco, 1998; Solórzano et al., 2010).

Con respecto a la duración de las fenofases, en la Reserva de Biosfera El Triunfo (Chiapas), donde las

Tabla 1

Parámetros obtenidos mediante estadística circular para la actividad (Ac) e intensidad (In) de las fenofases reproductivas de *Prunus lundelliana* (bf: botones florales, fl: flores, fi: frutos inmaduros, fm: frutos maduros), de abril/2017 a mayo/2019 en el área de influencia del volcán Tacaná, San Marcos-Guatemala

Parámetro	Periodo de estudio								
	abr/17-mar/18				abr/18-may/19				
	bf	fl	fi	fm	bf	fl	fi	fm	
Observaciones	88	60	101	35	33	30	87	50	
Ángulo medio (ā) en °	Ac	294.82°	338.86°	Δ 43.47°	118.60°	282.43°	324.25°	Δ 81.38°	105.32°
	In	281.48°	337.53°	42.35°	116.37°	282.75°	313.35°	80.58°	107.31°
Fecha media	Ac	26/oct	10/dic	14/feb	1/may	14/oct	25/nov	24/mar	17/abr
	In	13/oct	9/dic	12/feb	28/abr	14/oct	14/nov	23/mar	19/abr
Desviación estándar circular	Ac	55.95°	48.45°	57.59°	38.56°	57.00°	61.01°	55.08°	44.58°
	In	54.42°	45.20°	52.78°	36.97°	47.10°	49.27°	52.29°	45.24°
Intervalos de confianza 95 %	Ac	291.02° 298.63°	334.98° 342.73°	39.78° 47.15°	114.60° 122.60°	276.07° 288.79°	316.93° 331.57°	77.63° 85.13°	101.44° 109.19°
	In	275.12° 287.83°	330.58° 344.49°	36.40° 48.31°	108.97° 123.77°	274.28° 291.22°	304.73° 321.97°	75.08° 86.07°	100.28° 114.33°
Longitud del vector medio (r) ^Ψ	Ac	.62	.70	.60	.80	.61	.57	.63	.74
	In	.64	.73	.65	.81	.71	.69	.66	.73
Duración principal fenofase (ā ± 1 SD)	Ac	30/ago 22/dic	22/oct 28/ene	18/dic 13/abr	23/mar 9/jun	17/ago 11/dic	24/sep 26/ene	27/ene 19/may	3/mar 1/jun
	In	15/ago 2/dic	23/oct 23/ene	20/dic 6/abr	22/mar 4/jun	27/ago 30/nov	25/sep 8/ene	29/ene 15/may	4/mar 4/jun
Índice de Actividad (sincronía)		Alta	Alta	Alta	Alta	Baja	Alta	Alta	Baja
Índice de Fournier %		35.0	30.0	32.5	17.5	30.0	37.5	35.0	25.0

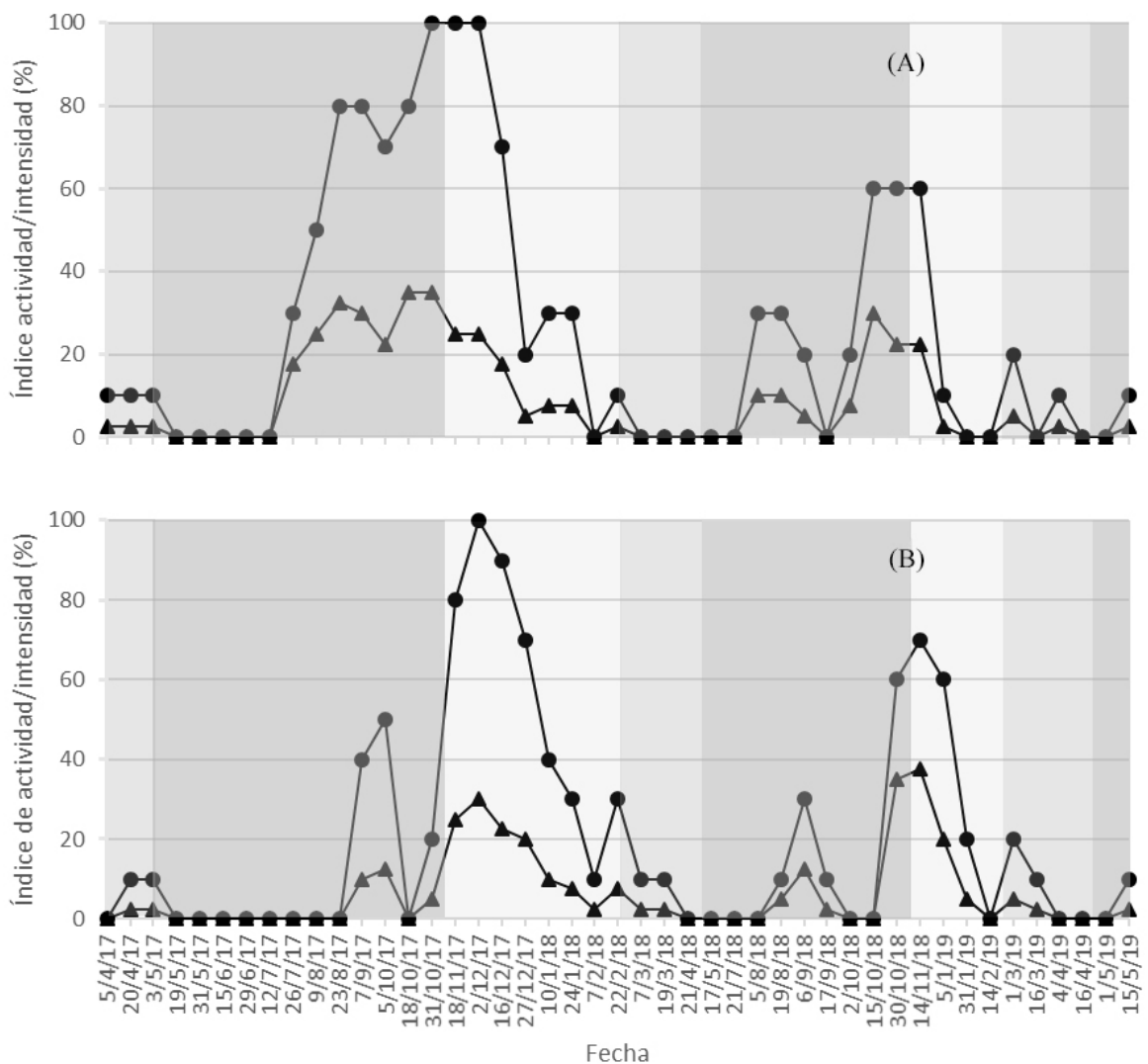
Nota. ^ΨZ de Rayleigh, $p < .001$ Δ F de Watson-Williams, $p < .05$

condiciones climáticas son semejantes a las encontradas en el área de estudio, Solórzano y colaboradores (2010) reportan para *Prunus brachybotrya* Zucc, y para *P. tetradenia* Koehne periodos variables en su floración y fructificación; para *P. tetradenia* tres meses de floración y cinco de fructificación, mientras que para *P. brachybotrya* un solo mes de floración y dos de fructificación. Por lo que fenofases de 2.5 a 3.5 meses de duración como las registradas en este estudio, se pueden considerar normales para especies del género *Prunus*.

Con relación al uso de *P. lundelliana* en programas de reforestación o restauración, es importante que la colecta de los frutos que se utilizarán para propagar sus semillas, se realice alrededor del pico de actividad-intensidad, es decir, entre el 15 de abril y el 15 de mayo. La colecta debe realizarse en varios individuos para garantizar que se mantenga la variabilidad genética de la población, lo cual puede asegurar el éxito a largo plazo de la restauración de un área determinada (Aavik & Helm, 2018).

Figura 3

Índices de actividad (●) e intensidad (▲) de las fenofases botones florales (A) y flores abiertas (B) de abril de 2017 a mayo de 2019 en Sibinal, San Marcos, Guatemala. Se marcan las temporadas seca (), transicional (), y lluviosa (■)



Al lado de la colecta de semillas, debe estar la creación y fortalecimiento de los viveros donde se propagaran las mismas, los viveros deben ser reconocidos como un componente integral de los objetivos de restauración de los bosques y una inversión prioritaria para asegurar que se alcancen esos objetivos (Haase & Davis, 2017). Para su establecimiento en las áreas a restaurar, hay que tomar en cuenta que *P. lundelliana* es

una especie de estados sucesionales intermedios, por lo que requiere una cubierta forestal para desarrollarse exitosamente (Del Castillo & Ríos, 2008).

La restauración ecológica busca devolver la composición, estructura y funcionalidad de los bosques originales a las áreas perturbadas (Elliott et al., 2013), por lo que no es extraño que cada día adquiera más interés, como lo demuestra la Iniciativa 20x20

Figura 4

Índices de actividad (●) e intensidad (▲) de las fenofases frutos verdes (A) y frutos maduros (B) de abril de 2017 a mayo de 2019 en Sibinal, San Marcos, Guatemala. Se marcan las temporadas seca (), transicional (), y lluviosa ()

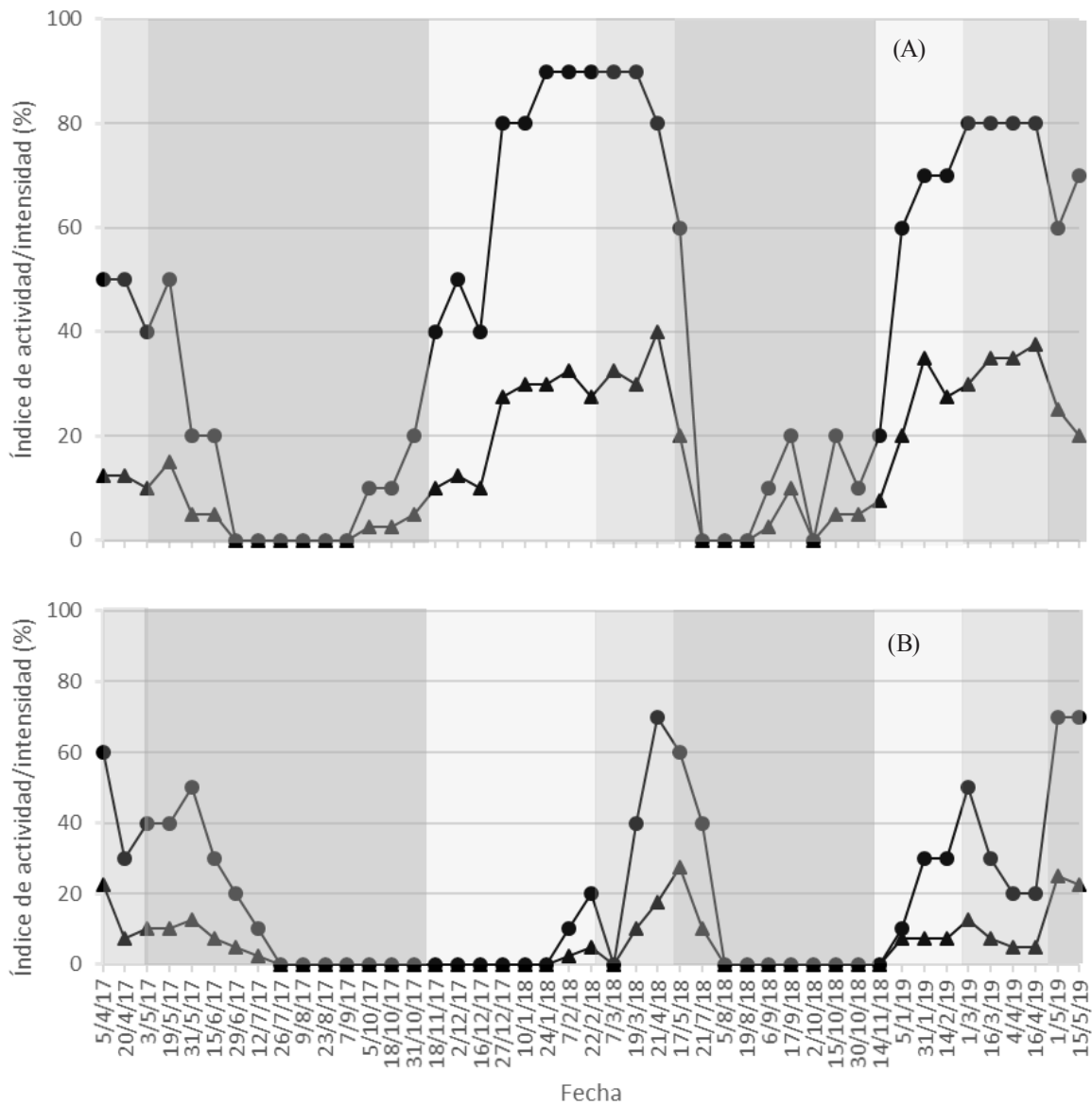


Tabla 2

Correlación de Spearman (r_s) entre los índices de actividad e intensidad de las fenofases reproductivas de *Prunus lundelliana* en los periodos abril de 2017 a marzo de 2018 y abril de 2018 a mayo de 2019 en el Volcán Tacaná, Sibinal, San Marcos

Periodo	Fenofase	Correlación de Spearman (r_s)*
abril/17-marzo/18	Botones florales	.974
	Flores abiertas	.999
	Floración	.982
	Frutos inmaduros	.989
	Frutos maduros	1.000
	Fructificación	.975
	Botones florales	.998
abril/18-mayo/19	Flores abiertas	.993
	Floración	.989
	Frutos inmaduros	.967
	Frutos maduros	.977
	Fructificación	.883

Nota. * $p < .001$

(<https://initiative20x20.org/about>), que pretende restaurar 20 millones de hectáreas en América Latina y el Caribe. Guatemala es parte de esta iniciativa y dentro de su estrategia resalta la necesidad de restaurar sus bosque nubosos (Mesa de Restauración del Paisaje Forestal de Guatemala, 2015). Por lo que contar con información fenológica podría mejorar la toma de decisiones y por ende mejorar la calidad de la restauración (Buisson et al., 2017). Además, en los estudios fenológicos debería involucrarse a los pobladores locales, tanto en la selección de las especies como en el monitoreo propiamente, tal como lo sugieren Sacande y Berrahmouni (2016), Luna-Nieves y colaboradores (2017), y Abernethy y colaboradores (2018), ya que ellos son los que directamente hacen uso de los recursos que estos bosques proveen.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado en su primer periodo por la Dirección General de Investigación de la Usac a través del Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente, bajo la partida presupuestal (4.8.63.2.02-2017). El segundo periodo se realizó con el apoyo financiero del Fondo para la Conservación de Bosques Tropicales (FCA) al proyecto Conservación y Restauración de los bosques nubosos en las faldas del volcán Tacaná y zona de influencia, ejecutado por la Asociación de Desarrollo Agroforestal Integral Sostenible (Adafis).

Asimismo, se agradece el apoyo de la municipalidad de Sibinal, San Marcos, en especial a Elfidio Pérez, así como también al Cocode de la aldea Vega

del Volcán. Al herbario Aguat de la Facultad de Agronomía de la Usac, en especial a David Mendieta por la determinación taxonómica de los individuos monitoreados. Un agradecimiento especial a Florencio López, Rogelio Hernández, Román Bartolón y Otilio Bravo, por su apoyo en el trabajo de campo.

Referencias

- Aavik, T., & Helm, A. (2018). Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. *Restoration Ecology*, 26, S92-S102. <https://doi.org/10.1111/rec.12634>
- Abernethy, K., Bush, E. R., Forget, P. M., Mendoza, I., & Morellato, L. P. C. (2018). Current issues in tropical phenology: A synthesis. *Biotropica*, 50(3), 477-482. <https://doi.org/10.1111/btp.12558>
- Aide, T. M., Ruiz-Jaen, M. C., & Grau, H. R. (2010). What is the state of tropical montane cloud forest restoration? En L. A. Bruijnzeel, F. N. Scatena & L. S. Hamilton (Eds.), *Tropical montane cloud forests: Science for conservation and management* (pp. 101-110). Cambridge University Press.
- Bencke, C. S. C., & Morellato, L. P. C. (2002a). Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(3), 269-275. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042002000300003>
- Bencke, C. S. C., & Morellato, L. P. C. (2002b). Estudio comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 25(2), 237-248. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042002000200012>
- Boulay, R., Carro, F., Soriguer, R. C., & Cerda, X. (2007). Synchrony between fruit maturation and effective dispersers' foraging activity increases seed protection against seed predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1625), 2515-2522. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0594>
- Buisson, E., Alvarado, S. T., Le Stradic, S., & Morellato, L. P. C. (2017). Plant phenological research enhances ecological restoration. *Restoration Ecology*, 25(2), 164-171. <https://doi.org/10.1111/rec.12471>
- Camacho, M., & Orozco, L. (1998). Patrones fenológicos de doce especies arbóreas del bosque montano de la Cordillera de Talamanca, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 46(3), 533-542.
- Cleland, E. E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H. A., & Schwartz, M. D. (2007). Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(7), 357-365. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.04.003>
- Del Castillo, R. F., & Ríos, M. A. P. (2008). Changes in seed rain during secondary succession in a tropical montane cloud forest region in Oaxaca, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 24(4), 433-444. <https://doi.org/10.1017/S0266467408005142>
- Demarée, G. R., & Rutishauser, T. (2011). From "Periodical Observations" to "Anthochronology" and "Phenology" - the scientific debate between Adolphe Quetelet and Charles Morren on the origin of the word "Phenology." *International Journal of Biometeorology*, 55(6), 753-761. <https://doi.org/10.1007/s00484-011-0442-5>
- Doi, H. (2007). Winter lowering phenology of Japanese apricot *Prunus mume* reflects climate change across Japan. *Climate Research*, 34(2), 99-104. <https://doi.org/10.3354/cr034099>
- Eisermann, K., & Schulz, U. (2005). Birds of a high-altitude cloud forest in Alta Verapaz, Guatemala. *Revista de Biología Tropical*, 53(3-4), 577-594. <https://doi.org/10.15517/rbt.v53i3-4.14672>
- Elliott, S., Blakesley, D., & Hardwick, K. (2013). *Restauración de bosques tropicales: Un manual práctico*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Fidalgo, A. D. O. (2019). Reproductive phenology of shrubs and trees in a Cerrado area of Mogi Guaçu, SP, Brazil. *Biotemas*, 32(3), 1-9. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2019v32n3p1>
- Fournier, L. A. (1978). Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Cespedesia*, 7, 25-26.
- Gall, F. (1983). *Diccionario geográfico de Guatemala*. Instituto Geográfico Nacional.
- Golicher, D. J., Cayuela, L., & Newton, A. C. (2012). Effects of climate change on the potential species richness of Mesoamerican forests. *Biotropica*, 44(3), 284-293. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2011.00815.x>

- Guitian, J. (1993). Why *Prunus mahaleb* (Rosaceae) produces more flowers than fruits. *American Journal of Botany*, 80(11), 1305-1309. <https://doi.org/10.2307/2445715>
- Guitian, J. (1994). Selective fruit abortion in *Prunus mahaleb* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, 81(12), 1555-1558. <https://doi.org/10.2307/2445332>
- Haase, D. L., & Davis, A. S. (2017). Developing and supporting quality nursery facilities and staff are necessary to meet global forest and landscape restoration needs. *Reforesta*, 4, 69-93. <https://doi.org/10.21750/REFOR.4.06.45>
- Heiling, J. M., & Gilbert, L. E. (2016). Cyanide two-step: Fruits lead and seeds follow in the chemical phenology of a subtropical cherry. *The Southwestern Naturalist*, 61(1), 57-60. <https://doi.org/10.1894/0038-4909-61.1.57>
- Holder, C. D. (2006). The hydrological significance of cloud forests in the Sierra de las Minas Biosphere Reserve, Guatemala. *Geoforum*, 37(1), 82-93. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2004.06.008>
- Ibarra-Manríquez, G., Martínez-Morales, M., & Cornejo-Tenorio, G. (2015). *Frutos y semillas del bosque tropical perennifolio: región de Los Tuxtlas, Veracruz*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Inouye, D. W., & Wielgolaski, F. E. (2013). Phenology at high altitudes. En M. D. Schwartz (Ed.), *Phenology: An integrative environmental science* (2nd ed., pp. 249-272). Springer Netherlands.
- Jardel, E. J., Cuevas, R., Santiago, A. L., & Rodríguez, J. M. (2014). Ecología y manejo de los bosques mesófilos de montaña en México. En M. Gual-Díaz & A. Rendón-Correa (Eds.), *Bosques mesófilos de montaña de México: diversidad, ecología y manejo* (pp. 141-188). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Jeanneret, F., & Rutishauser, T. (2010). Seasonality as a core business of phenology. En I. L. Hudson & M. R. Keatley (Eds.), *Phenological research: Methods for environmental and climate change analysis* (pp. 63-74). Springer Science.
- Kai, K., Kainuma, M., Murakoshi, N., & Omasa, K. (1993). Potential effects on the phenological observation of plants by global warming in Japan. *Journal of Agricultural Meteorology*, 48(5), 771-774. <https://doi.org/10.2480/agrmet.48.771>
- Kettle, C. J. (2012). Seeding ecological restoration of tropical forests: Priority setting under REDD+. *Biological Conservation*, 154, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.03.016>
- Koike, S., Kasai, S., Yamazaki, K., & Furubayashi, K. (2008). Fruit phenology of *Prunus jamasakura* and the feeding habit of the Asiatic black bear as a seed disperser. *Ecological Research*, 23(2), 385-392. <https://doi.org/10.1007/s11284-007-0399-3>
- Kovach, W. L. (2011). Oriana – *Circular Statistics for Windows* (Version 4.02). Kovach Computing Services.
- Lieth, H. (1974). *Phenology and seasonality modeling*. Springer-Verlag.
- López de Buen, L., & Ornelas, J. F. (2001). Seed dispersal of the mistletoe *Psittacanthus schiedeanus* by birds in Central Veracruz, Mexico. *Biotropica*, 33(3), 487-494. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2001.tb00202.x>
- Luna-Nieves, A. L., Meave, J. A., Morellato, L. P. C., & Ibarra-Manríquez, G. (2017). Reproductive phenology of useful seasonally dry tropical forest trees: Guiding patterns for seed collection and plant propagation in nurseries. *Forest Ecology and Management*, 393, 52-62. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.03.014>
- Matson, J. O., Ordóñez-Garza, N., Bulmer, W., & Eckerlin, R. P. (2012). Small mammal communities in the Sierra de Los Cuchumatanes, Huehuetenango, Guatemala. *Mastozoología Neotropical*, 19(1), 71-84.
- Mendoza, I., Peres, C. A., & Morellato, L. P. C. (2017). Continental-scale patterns and climatic drivers of fruiting phenology: A quantitative Neotropical review. *Global and Planetary Change*, 148, 227-241. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2016.12.001>
- Mesa de Restauración del Paisaje Forestal de Guatemala. (2015). *Estrategia de restauración del paisaje forestal: mecanismo para el desarrollo rural sostenible de Guatemala*. INAB/Programa Forestal Nacional.
- Montagnini, F. (2005). Selecting tree species for plantation. En S. Mansourian, D. Vallauri & N.

- Dudley (Eds.), *Forest restoration in landscapes: Beyond planting trees* (pp. 262-268). Springer.
- Morellato, L. P. C., Abernethy, K., & Mendoza, I. (2018). Rethinking tropical phenology: Insights from long-term monitoring and novel analytical methods. *Biotropica*, 50(3), 371-373. <https://doi.org/10.1111/btp.12562>
- Morellato, L. P. C., Alberti, L. F., & Hudson, I. L. (2010). Applications of circular statistics in plant phenology: a case studies approach. En I. L. Hudson & M. R. Keatley (Eds.), *Phenological research: Methods for environmental and climate change analysis* (pp. 339-359). Springer Science+Business Media.
- Morellato, L. P. C., Camargo, M. G. G., & Gressler, E. (2013). A review of plant phenology in South and Central America. En M. D. Schwartz (Ed.), *Phenology: An integrative environmental science* (2nd ed., pp. 91-113). Springer Netherlands.
- Morellato, L. P. C., Camargo, M. G. G., Neves, F. F. D., Luize, B. G., Mantovani, A., & Hudson, I. (2010). The influence of sampling method, sample size, and frequency of observations on plant phenological patterns and interpretation in tropical forest trees. En I. L. Hudson & M. R. Keatley (Eds.), *Phenological Research. Methods for Environmental and Climate Change Analysis* (pp. 99-121). Springer Netherlands.
- Newton, A. C. (2011). Síntesis: Principios y práctica de la restauración del paisaje forestal. En A. C. Newton & N. Tejedor (Eds.), *Principios y práctica de la restauración del paisaje forestal: Estudios de caso en las zonas secas de América Latina* (pp. 377-409). Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, Fundación Internacional para la Restauración de Ecosistemas.
- Núñez-Cruz, A., Meave, J. A., & Bonfil, C. (2018). Reproductive phenology and seed germination in eight tree species from a seasonally dry tropical forest of Morelos, Mexico: Implications for community-oriented restoration and conservation. *Tropical Conservation Science*, 11, 1-14. <https://doi.org/10.1177/1940082917749946>
- Ochoa-Gaona, S., Pérez, I., & de Jong, B. H. J. (2008). Fenología reproductiva de las especies arbóreas del bosque tropical de Tenosique, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 56(2), 657-673.
- Parmesan, C. (2007). Influences of species, latitudes and methodologies on estimates of phenological response to global warming. *Global Change Biology*, 13, 1860-1872.
- Pérez-Zabala, J. A. (2014). Prunus. In G. M. Davidse, S. Sousa, S. Knapp, F. Chiang, & C. Ulloa (Eds.), *Flora Mesoamericana* (Vol. 2, Part. 3, pp. 37-87). Missouri Botanical Garden.
- Pires, J. P. de A., da Silva, A. G., & Freitas, L. (2014). Plant size, flowering synchrony and edge effects: What, how and where they affect the reproductive success of a Neotropical tree species. *Austral Ecology*, 39(3), 328-336. <https://doi.org/10.1111/aec.12082>
- Primack, R. B., Higuchi, H., & Miller-Rushing, A. J. (2009). The impact of climate change on cherry trees and other species in Japan. *Biological Conservation*, 142(9), 1943-1949. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.03.016>
- Ramírez-Marcial, N., Camacho-Cruz, A., & González-Espinosa, M. (2003). *Guía para la propagación de especies leñosas nativas de los Altos y montañas del Norte de Chiapas*. El Colegio de la Frontera Sur.
- Ramírez-Marcial, N., Camacho-Cruz, A., & González-Espinosa, M. (2008). Clasificación de grupos funcionales vegetales para la restauración del bosque mesófilo de montaña. En L. R. Sánchez-Velásquez, J. Galindo-González & F. Díaz (Eds.), *Ecología, manejo y conservación de los ecosistemas de montaña en México* (pp. 51-72). Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, Universidad Veracruzana, Mundi Prensa México.
- Ramírez-Marcial, N., & González-Espinosa, M. (2011). *Prunus lundelliana* Standl. En M. González-Espinosa, J. A. Meave, F. G. Lorea-Hernández, G. Ibarra-Manríquez & A. C. Newton (Eds.), *The red list of Mexican cloud forest trees* (p. 74). Fauna & Flora International.
- Rivas, J. A. (2015). *Propuesta de monitoreo biológico en el volcán Tacaná y su zona de influencia en Guatemala*. HELVETAS-Guatemala.

- Rodríguez-Pérez, J., & Traveset, A. (2016). Effects of flowering phenology and synchrony on the reproductive success of a long-flowering shrub. *AoB PLANTS*, 8. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw007>
- Sacande, M., & Berrahmouni, N. (2016). Community participation and ecological criteria for selecting species and restoring natural capital with native species in the Sahel. *Restoration Ecology*, 24(4), 479-488. <https://doi.org/10.1111/rec.12337>
- Sakai, S., & Kitajima, K. (2019). Tropical phenology: Recent advances and perspectives. *Ecological Research*, 34(1), 50-54. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.1131>
- Sánchez-Ramos, G., & Dirzo, R. (2014). El bosque mesófilo de montaña: un ecosistema prioritario amenazado. En M. Gual-Díaz & A. Rendón-Correa (Eds.), *Bosques mesófilos de montaña de México: Diversidad, ecología y manejo* (pp. 109-139). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Schuster, J. C., Cano, E. B., & Cardona, C. (2000). Un método sencillo para priorizar la conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando Passalidae (Coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zoologica Mexicana*, 80, 197-209.
- Schwartz, M. D. (2013). Introduction. En M. D. Schwartz (Ed.), *Phenology: An integrative environmental science* (2nd ed., pp. 1-5). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Solórzano, S., Avila, L., Castillo, S., Meave, J. A., & Ibarra-Manríquez, G. (2010). Fenología de los árboles del bosque mesófilo de la Reserva de la Biosfera El Triunfo, Chiapas. en M. Á. Pérez-Farrera, C. Tejeda-Cruz, & E. Silva-Rivera (Eds.), *Los bosques mesófilos de montaña en Chiapas: situación actual, diversidad y conservación* (pp. 121-160). Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Rosaceae. En P. C. Standley & J. A. Steyermark (Eds.), *Flora of Guatemala* (Part 4, pp. 432-484). Fieldiana Botany.
- Sutherland, S., & Delph, L. F. (1984). On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology*, 65(4), 1093-1104. <https://doi.org/10.2307/1938317>
- Taylor, F. G. (1974). Phenodynamics of production in a mesic deciduous forest. In H. Lieth (Ed.), *Phenology and seasonality modeling* (pp. 237-254). New York: Springer-Verlag.
- Thompson, J. N., & Willson, M. F. (1979). Evolution of temperate fruit/bird interactions: Phenological strategies. *Evolution*, 33(3), 973-982. <https://doi.org/10.2307/2407660>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>
- Volis, S. (2016). Conservation meets restoration—rescuing threatened plant species by restoring their environments and restoring environments using threatened plant species. *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(4), 262-275. <https://doi.org/10.1080/07929978.2016.1255021>
- Zar, J. H. (1999). *Biostatistical analysis* (4th ed.). Prentice-Hall.

Effect of sulfonated block copolymer on the equilibrium and thermal properties of sulfonated fluoroblock copolymer blend membrane

Efecto del copolímero en bloque sulfonado sobre las propiedades térmicas y de equilibrio de una membrana sulfonada mezclada con un fluoropolímero en bloque

Edward M. A. Guerrero-Gutiérrez*

Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: edward.guerrero@upr.edu

Recibido: 26 de marzo 2020 / Revisión: 02 de agosto 2020 / Aceptado: 29 de enero 2021

Abstract

Polymeric membrane technologies demand the synthesis of new polymers to enhance their equilibrium, thermal, and transport properties. Therefore, the focus of this investigation was the evaluation of the equilibrium and thermal properties of a sulfonated fluoroblock copolymer blend membrane composed of sulfonated poly(styrene-isobutylene-styrene) (SIBS SO₃H) and a novel sulfonated fluoroblock copolymer composed of poly(4-fluorostyrene) (P4FS), poly(styrene) (PS) and poly(isobutylene) (PIB). The fluoroblock copolymer was synthesized using Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) and cationic polymerization. First, the molecular weight and the thermal stability of the block copolymer were determined using Gel Permeation Chromatography (GPC) and Thermogravimetric Analysis (TGA). Second, the chemical composition was monitored utilizing Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. The molecular weight of P4FS-b-PS was Mn ~ 36,100; this value increased 8% after the cationic polymerization. The equilibrium properties of the membrane were evaluated using the water uptake and Ion-Exchange Capacity. The degradation behavior and the thermal transitions were determined using TGA and Differential Scanning Calorimetry (DSC), respectively. This newly membrane exhibited water uptake higher than 608% related to the improvement of 36% in the ion-exchange capacity and the increment of 25.31% and 25.24% in the energy required to produce the thermal transitions induced by the addition of the sulfonated fluoroblock copolymer.

Palabras claves: Ion-Exchanged Capacity, DSC, thermal degradation, ionic domains

Resumen

La tecnología de membranas poliméricas requiere de la síntesis de nuevos polímeros que mejoren sus propiedades de equilibrio, térmicas y de transporte. Esta investigación tuvo como objetivo determinar las propiedades de equilibrio y térmicas de una membrana compuesta de poli(estireno-isobutileno-estireno) sulfonado (SIBS SO₃H) y un fluoropolímero en bloque sulfonado compuesto de poli(4-fluorostireno) (P4FS), poli(estireno) (PS) y poli(isobutileno) (PIB). El fluoropolímero en bloque se sintetizó utilizando la técnica de polimerización radical por transferencia atómica (ATRP por sus siglas en inglés) y polimerización catiónica. El peso molecular y la estabilidad térmica del fluoropolímero en bloque fueron determinadas por medio de Cromatografía de Permeación en Gel (GPC) y un análisis termogravimétrico (TGA). La composición química se monitorizó utilizando espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). El peso molecular de P4FS-b-PS fue Mn ~ 36,100; este valor aumentó un 8% después de la polimerización catiónica. Las propiedades de equilibrio de la membrana fueron evaluadas por medio de la absorción de agua y la capacidad de intercambio iónico. El comportamiento de degradación y las transiciones térmicas se determinaron utilizando TGA y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Esta nueva membrana exhibió una absorción de agua mayor del 608% relacionada con la mejora del 36% en la capacidad de intercambio iónico y el incremento en 25.31% y 25.24% en la energía requerida para producir las transiciones termales inducidas por la adición del fluoropolímero sulfonado en bloque.

Keywords: Capacidad de intercambio iónico, DSC, degradación termal, dominios iónicos



Introduction

Membrane technologies are characterized by simultaneous retention of species and product flow through the semipermeable membrane. Membrane performance is based on its high selectivity, compatibility with the operating environment, good mechanical, chemical, and thermal properties (Singh, 2015). These technologies possess several advantages over conventional separation processes: environmentally safe, easy to operate and produce high-quality products (Ahmad & Ahmed, 2014). The most widely employed membrane technologies applications are gas separation (Ye et al., 2019), water purification (Madaeni et al., 2015), chemical-biological protecting clothes (Barreto & Suleiman, 2010), and proton exchanged membranes (PEMs) fuel cells (Avilés-Barreto & Suleiman, 2013; Pérez-Pérez & Suleiman, 2016; Xie et al., 2015). PEMs fuel cells are electrochemical devices that convert chemical energy of the reactants directly into electricity and heat with high efficiency (Alaswad et al., 2016). This device consists of a cathode, an anode and an electrolyte membrane (Peighambardoust et al., 2010). Nafion® is a sulfonated fluoropolymer that is the state-of-the-art membrane in PEMs applications because of its high proton conductivity and excellent thermal and mechanical properties (Mauritz & Moore, 2004). Nafion® morphology plays an important role because is modify by the hydration process, which results in growth and connectivity of the hydrophilic domains that enable facile proton and water transport (Kusoglu & Weber, 2017). Unfortunately, this membrane possesses several disadvantages, such as its high cost to manufacture and low conductivity under low humidity conditions (Kraytsberg & Ein-Eli, 2014; Santoro et al., 2017).

Sulfonated poly(styrene-isobutylene-styrene) (SIBS SO₃H) is a sulfonated thermoplastic elastomer that has attracted attention as an alternative PEMs membrane due to its low cost, well-defined morphology, high ion-exchange capacity (IEC), and proton conductivity comparable to Nafion® (Avilés-Barreto & Suleiman, 2013; Elabd et al., 2006). Important parameters being investigated to obtain PEMs with higher proton conductivity and low methanol permeability depend on the membrane morphology and chemical-physical interactions (Elabd et al., 2006; Kumari et al., 2018). Moreover, the water uptake and the IEC are

other parameters that impact the morphology configuration in the membrane (Kusoglu et al., 2020). Sulfonated thermoplastic elastomers morphology has gained interest because the ionic structure facilitates transport and enhance the equilibrium properties. However, the nonionic microdomain provides mechanical support to the membrane (Elabd & Hickner, 2011). An alternative to obtaining PEMs with a controlled morphology are polymer blend membranes. These types of membranes improve their proton conductivity and reduce methanol permeability (Huang et al., 2019; Jung et al., 2004). Sulfonated thermoplastic elastomers blended with well-ordered fluoroblock copolymers were studied to modify its morphology, Ion-Exchange Capacity, and water uptake (Guerrero-Gutiérrez et al., 2017). These advanced well-ordered fluoropolymers with specific structures and lower polydispersity were synthesized using Controlled radical polymerization (CRP) (Guerrero-Gutiérrez et al., 2017; Matyjaszewski, 2012).

Atom Transfer Radical Polymerization (ATRP) is a CRP technique that used an alkyl halide-like initiator, a transition metal in the lower oxidation state and a ligand to synthesize different fluoropolymers like, per-fluoroalkyl ethyl methacrylate and fluoropolymers with polyether blocks, for example. Initiators for ATRP must have a halogen (Br or Cl) and a functional group that can stabilize the formed radical (Jankova & Hvilsted, 2005). These active halogen end groups can be used to extend additional polymeric chains using cationic polymerization. A pentablock copolymer of methyl methacrylate, PS, and PIB was obtained using a combination of both ATRP and cationic polymerization (Toman et al., 2005).

Fluoroblock copolymers seem to have a strong influence on the morphology and the equilibrium properties of blend membranes. Therefore, the first goal of this investigation was the synthesis of a novel fluoroblock copolymer composed of P4FS, PS and, PIB. The homo and diblock copolymer based on P4FS and PS were synthesized using ATRP. PIB was attached to the macroinitiator (P4FS-b-PS) using cationic polymerization. Furthermore, the equilibrium and thermal properties of ionic blend membranes composed of a sulfonated thermoplastic elastomer called SIBS SO₃H and P4FS-b-PS-PIB SO₃H were investigated to determine the influence of the sulfonated fluoroblock copolymer on the Ion-Exchange Capacity, water uptake, degradation behavior, and the thermal transitions.

Materials and Methods

Materials

Isobutylene (IB) (99.9% purity) was acquired from Linde Gas Puerto Rico, Inc. Diethylaluminum chloride (Et_2AlCl), 1M solution in hexane, AcroSeal® (Acros-Organics). Zonyl® BA-L Fluorotelomer intermediate (70 wt.%) Mn~443 was acquired from Sigma-Aldrich. Other chemicals used include triethylamine, (Acros Organics, 99%), 4-dimethylamino pyridine, (Acros Organics, 99%), 2-chloropropionyl chloride, (Acros-Organics, 95%), 2, 2'-dipyridyl-Bipy - (Acros Organics, extra pure, 99%), calcium hydride (CaH_2) (Acros Organics, 93%), and copper (I) chloride (Acros Organics, 99%). All chemicals were employed as received. The monomers used included: 4-fluorostyrene (4FS) (Acros Organics 97% stabilized with 0.1% tert.-butylcatechol) and styrene (S) (Acros Organics, 99% inhibited with 4-tert-butyl catechol). Both 4FS and S were passed through an inhibitor remover (disposable column from Sigma-Aldrich). After this process, both monomers and the solvent were stored over CaH_2 and then vacuum-distilled before polymerization. SIBS was purchased from Kaneka® (30 wt.% polystyrene and Mn~65,000 g/mol). Sulfuric acid (Sigma Aldrich, 95–98%), acetic anhydride (Aldrich Chemical, 99 +%), hexyl alcohol (Acros Organics, 98%, extra pure), methanol (Fisher Scientific, 99.9%), Toluene ACS reagent (99%) and dichloromethane (99.9%) were acquired from Fisher Scientific.

ATRP and cationic polymerization

In a characteristic homo polymerization or copolymerization by ATRP, a Schlenk tube was charged with the initiator (esterified Zonyl® was synthesized following the procedure of a previous study (Perrier et al., 2002) or the macroinitiator (P4FS), copper chloride (CuCl), and the 2, 2'-dipyridyl (bipy). The molar ratio of initiator: CuCl :bipy was kept 1:1:2 (Jankova & Hvilsted, 2003). The monomer was added, and the system was degassed three times by freezing and thawing; then heating to 110°C under a nitrogen atmosphere for 24 h. Upon completion of the experiment, the polymerization mixture was diluted with THF. The solution was filtered (to remove the catalyst) and then precipitated in methanol, where the polymer appeared as a fluffy white material that was recovered after vacuum drying.

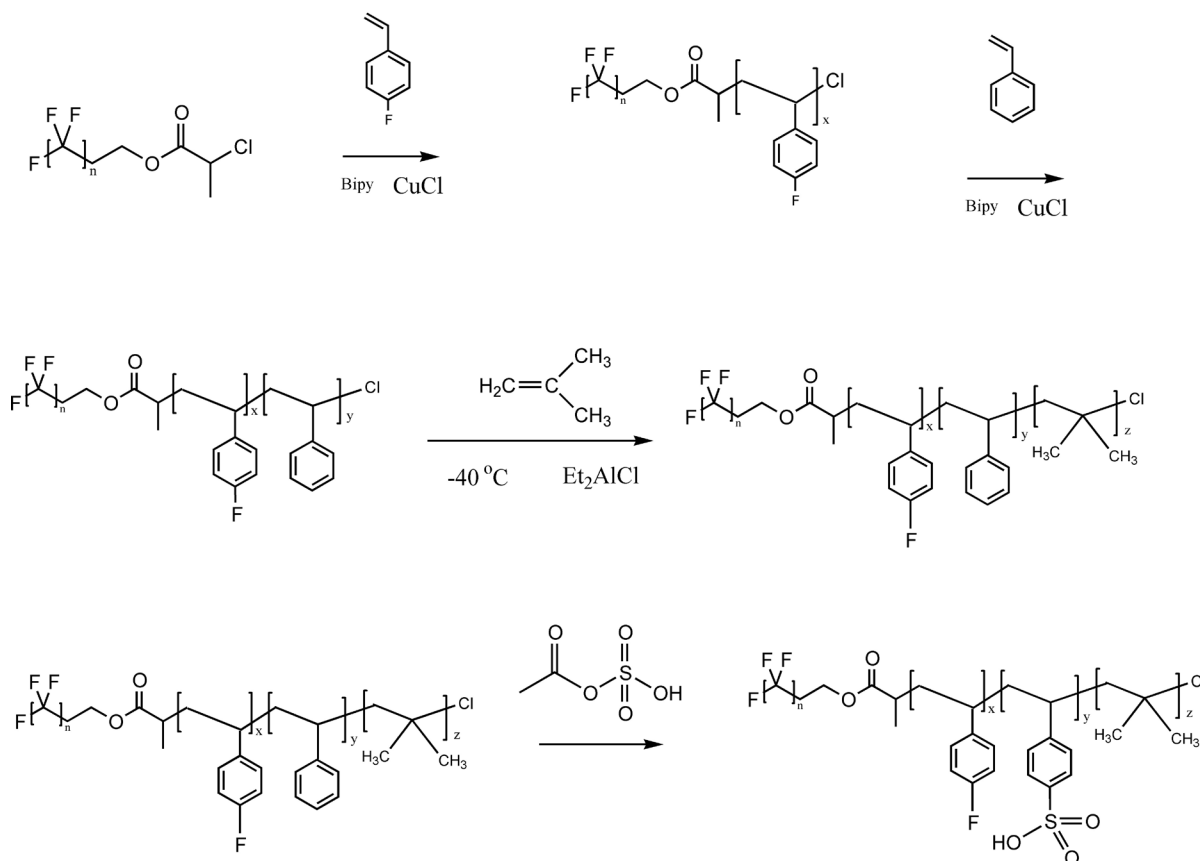
The synthesis of P4FS-B-PS-b-PIB was carried out in dichloromethane at -41°C for 6 h. The polymerization process is described in more detail elsewhere (Toman et al., 2005). A Schlenk tube was charged with the P4FS-b-PS and the IB; then the polymerization reaction was initialized with diethyl aluminum chloride. Upon completion of the experiment, the solution was precipitated in methanol. All the polymerization reactions for the homo, di, and triblock copolymers are presented in scheme 1.

Characterization

The chemical compositions of the polymers were obtained by FT-IR (Bruker Alpha Platinum-ATR). The sample was clamped on the ATR cell and all infrared spectra were collected using 64 scans, 4 cm⁻¹ resolution, and a range of 600-4,000 cm⁻¹. The homopolymers and the block copolymers were characterized by ¹H NMR, using an NMR Bruker 500 MHz spectrometer with d-chloroform as a solvent. GPC was performed on a Waters GPC system equipped with a mixed column (PLgel 5µm MIXED-C, Varian Inc.) and a differential refractometer (BI-DNDC, Brookhaven Instruments). THF HPLC solvent was used as the mobile phase with a flow rate of 0.5 mL/min. Molecular weight distributions were obtained concerning polystyrene standards (Varian Inc.). The thermal degradation behavior for each homo, di, and triblock copolymer and the membranes was determined using TGA. A Mettler Toledo 851e instrument was used for this purpose. Polymer samples weighing approximately 5-10 mg were used in each experiment. Degradation temperatures were determined after heating the polymer samples to 800°C at 10°C/min under a nitrogen atmosphere. Thermophysical properties were determined using a DSC Texas Instrument DSC Q2000. Polymer samples weighing approximately 5-10 mg were used in each experiment. Thermal transitions for the samples were determined after heating the polymer samples from -80°C to 350°C at 10°C/min under a nitrogen atmosphere.

Blend Preparation, Ion Exchange Capacity (IEC) and Water Swelling

Poly(styrene-isobutylene-styrene) (SIBS) and P4FS-b-PS-b-PIB were sulfonated using acetyl sulfate as the sulfonating agent. The sulfonation process is de-



Scheme 1. Polymerization reaction for P4FS-b-PS-b-PIB and P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H

scribed in more detail elsewhere (Barreto & Suleiman, 2010). The preparation of physical blends consisted of mixing SIBS SO₃H and P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H. SIBS SO₃H and the sulfonated fluoroblock copolymer were dissolved in a solution (85/15) (v/v) of toluene and hexyl alcohol with a polymer concentration of 5 wt%. SIBS SO₃H / P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H membranes were solvent cast in Teflon® Petri dishes for 72 h at room temperature as the solvent evaporated; then dried at 60°C for 24 h to remove the residual solvent. Elemental Analysis (EA) was used to determine the exact amount of mole percent of sulfonated styrene in the membrane. EA was conducted by Atlantic Microlab, Norcross, Georgia. IEC was measured by immersing a specific amount of the membrane in a 1.0 M solution of NaCl for 24 h. After removing the membrane, the solution was titrated using a 0.1 M solution of NaOH until the pH was neutral. The IEC was calculated from the moles of ion substituted divided by the initial dry mass of the membrane (Avilés-Barreto & Suleiman,

2013). Water absorption or water swelling in the membranes was measured immersing each membrane in an excess of deionized water at 25°C. The weight of the sample initially dried at 60°C for 24 hours in an oven was originally recorded, as well as the weight of the membrane after immersion in water. The weight of the wet membranes was measured after different time intervals until swelling equilibrium was reached (Ortiz-Negrón & Suleiman, 2015).

Results

Polymer characterization: molecular weight and chemical characterization

The molecular weight of the fluoroblock copolymers was determined using GPC. P4FS was synthesized using esterified Zonyl® like initiator. The molecular weight for this polymer was Mn ~ 9,110 g/mol with

a polydispersity (PDI) of 1.48. The molecular weight for P4FS-b-PS and P4FS-b-PS-b-PIB was $M_n \sim 36,100$ and $M_n \sim 39,100$ g/mol with a PDI of 1.92 and 1.83 respectively. The molecular weight increased 8% after the cationic polymerization. The polymer composition for P4FS-b-PS-b-PIB was 1.6 wt% esterified Zonyl®, 6.3 wt% P4FS, 72.1 wt% PS, and 19.9 wt% PIB.

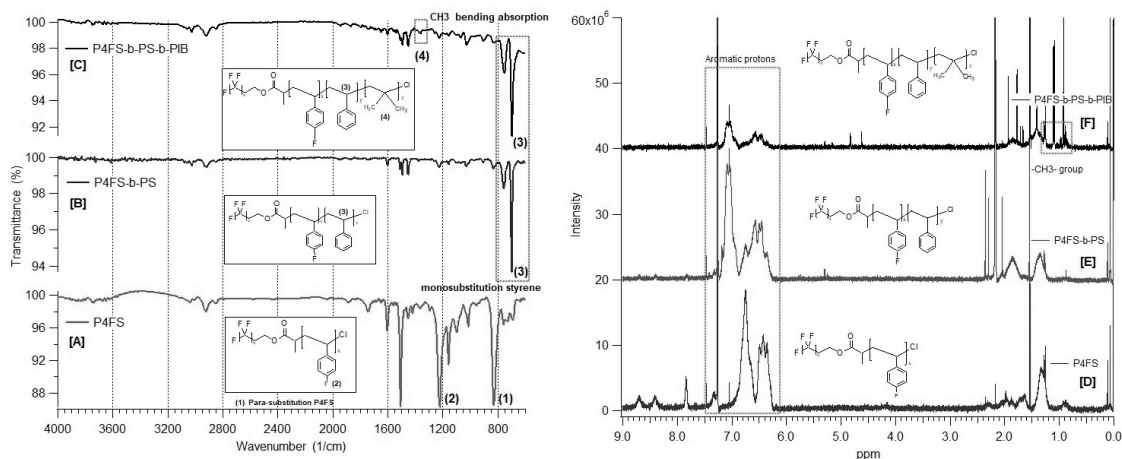
The chemical composition for the fluoroblock copolymers was monitored by FTIR and ^1H NMR. Figure 1[A] shows the FTIR spectra of P4FS. Three distinct regions of bands were observed in this figure. First, a para-substitution band of P4FS at 820 cm^{-1} (1) corresponds to C-F group attached to the aromatic ring. The second region (from $2,000$ to $1,667\text{ cm}^{-1}$) corresponds to overtone absorptions induced by the aromatic ring. The third region appeared between $1,300$ and $1,000\text{ cm}^{-1}$; this is another characteristic band that corresponds to the C-F group attached to 4FS (2). Figure 1[B] shows the FTIR spectra of P4FS-b-PS. The addition of PS to the polymer backbone was confirmed by the presence of the mono-substitution band corresponding to the styrene group at 700 cm^{-1} (3). P4FS-b-PS-b-PIB exhibited the same bands previously observed; additionally, the vibration to the bending absorption of the CH_3 group attached to PIB appeared around $1,375\text{ cm}^{-1}$ (4) (Figure 1[C]). Liquid ^1H NMR was employed to confirm the chemical composition of the synthesized fluoroblock copolymers. Figure 1[D] exhibits the ^1H NMR spectra of P4FS. This polymer presented peaks at a large chemical shift around 6.5 ppm, assigned to the typical band of the protons attached to the aromat-

ic ring in 4FS. The peaks at 1.85 and 1.35 ppm were assigned to the methylene ($-\text{CH}_2-$) and methine ($-\text{CH}-$) absorptions in 4FS. Figure 1[E] shows the ^1H NMR spectra for P4FS-b-PS; this spectrum presented an additional absorption around 7 ppm that represents the protons attached to the aromatic ring in PS. One additional peak appeared in P4FS-b-PS-b-PIB concerning P4FS-b-PS at 1 ppm (Figure 1[F]). This absorption is a characteristic chemical shift that corresponds to the methyl group ($-\text{CH}_3-$) attached to PIB. Both FT-IR and Liquid ^1H NMR spectra confirm the chemical composition of the synthesized polymers using ATRP and cationic polymerization.

Polymer characterization: thermal behavior

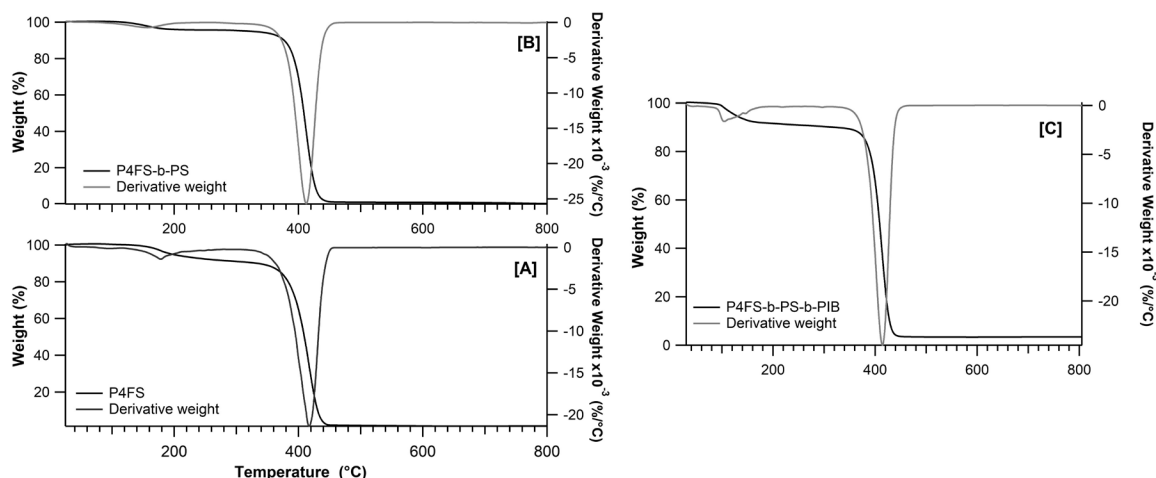
The thermal degradation for the fluoroblock copolymers was obtained by TGA. P4FS (Figure 2[A]) presented two different degradations. The first degradation occurred at 177.96°C with a weight loss percent of 7.35%. The polymer backbone remained constant until the second degradation range from 375°C to 440°C . The weight loss percent for this degradation was 92.65%. The thermal stability of P4FS-b-PS is shown in Figure 2[B]. This polymer exhibited two degradation temperatures at 178°C and 417°C with a weight loss of 5% and 95% respectively. Figure 2[C] exhibits the degradation of P4FS-b-PS-PIB. The addition of PIB into the polymeric chain adversely affected the thermal stability of P4FS-b-PS. The polymer suf-

Figure 1



Note. FTIR spectra for P4FS [A], P4FS-b-PS [B], and P4FS-b-PS-b-PIB [C]. ^1H NMR spectra for P4FS [D], P4FS-b-PS [E], and P4FS-b-PS-b-PIB [F].

Figure 2



Note. Thermal stability for P4FS [A], P4FS-b-PS [B] and P4FS-b-PS-b-PIB [C].

ferred thermal degradation below 110°C, and the remaining polymer chain degraded at 417°C. The weight loss step of PIB was overlapped with all the P4FS-b-PS polymeric chains.

Polymer blend characterization: sulfonation level, Ion-Exchange Capacity (IEC), water uptake and thermal behavior

The sulfonation level was calculated from the elemental analysis results. The sulfonation level for SIBS SO₃H was 84%. The addition of P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H to SIBS SO₃H increased the sulfonation level from 84 to 93%. The addition of the sulfonated fluoroblock copolymer also affected the IEC. The IEC indicates the ion-exchangeable sites available per gram of membrane. The IEC for SIBS SO₃H was 1.84 meq/g; however, the blend membrane increased 36% (2.50 meq/g) concerning SIBS SO₃H. The water uptake represents the water absorbed by the membrane. SIBS SO₃H exhibited a water uptake of 608%. The polymeric blend membrane exhibited different behavior; the membrane started to dissolve after 5 min submerged in water.

Figure 3[A] shows the thermal behavior for the SIBS SO₃H membrane. This membrane exhibited four degradation temperatures. The first at 50-100°C; the second degradation at 245°C, the third degradation at 419°C, and the last degradation at 525°C. Figure 3[B] shows the degradation curve for the SIBS SO₃H

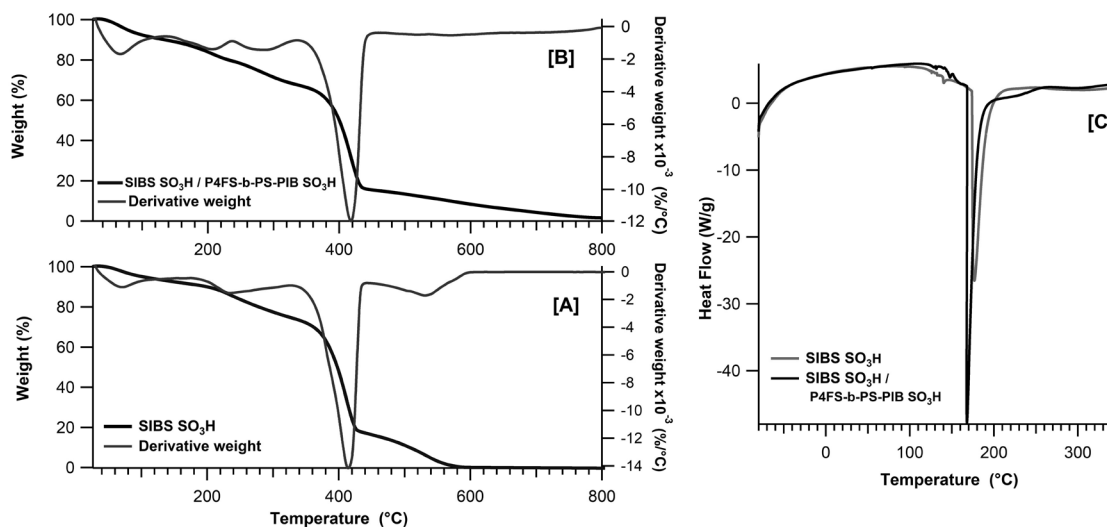
/ P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H membrane. This membrane exhibited one region that remained unchanged concerning SIBS SO₃H (419°C). Nevertheless, at 203°C and 274°C were observed two additional weight losses; moreover, the degradation at 524°C exhibited a different degradation trend. Figure 3[C] exhibits the DSC curve for SIBS SO₃H. This membrane exhibited two endothermic peaks at 140°C at 177°C. The first and second endothermic peaks require 1.58 and 305 J/g, respectively. The incorporation of P4FS-b-PS-PIB SO₃ to SIBS SO₃H presented a difference in both the energy and the temperature required to produce the endothermic transitions. The first endothermic transition shifted to a higher temperature (147°C); however, the second transitions moved towards lower temperature (168°C) and requires 1.98 J/g. Interestingly, the energy required to produce both transitions increased by 25.31 and 25.24% respectively.

Discussion

Polymer characterization: thermal behavior

The thermal behavior for the fluoropolymers was obtained using TGA. The first degradation of P4FS at 177.96°C with a weight loss percent of 7.35% corresponds to esterified Zonyl®. PS polymerized using esterified Zonyl® produces degradation at a similar temperature (Guerrero-Gutiérrez et al., 2015). The second degradation range (375-440°C) corresponds

Figure 3



Note. Thermal stability for SIBS SO₃H [A] and SIBS SO₃H / P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H [B] membranes. DSC curve for SIBS SO₃H and SIBS SO₃H / P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H [C].

to the polymer backbone. P4PS-b-PS (Figure 2[B]) exhibited similar degradation range temperatures than P4FS. The degradation range temperature of PS is located between 375–450°C (Seleem et al., 2017). Consequently, the weight loss of PS was overlapped with P4FS degradation. The weight loss step of PIB also was overlapped with all the P4FS-b-PS chains (Figure 2[C]). Previous studies report that the weight loss of block copolymers composed of PS and PIB is indistinguishable from each other (Avilés-Barreto & Suleiman, 2013; Suleiman et al., 2007).

Polymer blend characterization: sulfonation level, Ion-Exchanged Capacity (IEC), water uptake and thermal behavior

The degradation behavior for the membranes was obtained using TGA. SIBS SO₃H membrane exhibited four degradation ranges. The first at 50–100°C corresponds to water absorbed in the membrane; the second degradation region at 245°C represents the sulfonic group, and the third degradation at 419°C represents the polymer backbone degradation (Suleiman et al., 2007). Figure 3[B] shows the degradation curve for the SIBS SO₃H / P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H membrane. This membrane exhibited one region that remained unchanged concerning SIBS SO₃H at 419°C. Nevertheless, at 203°C and 274°C were observed two addition-

al weight losses. These results suggest that different sulfonic domains coexist in the same polymer membrane. Additionally, ionic interactions with the sulfonic group suggest a different trend in weight loss at higher temperatures (525°C) in sulfonated SIBS membranes (Avilés-Barreto & Suleiman, 2013).

Figure 3[C] presents the DSC curve for SIBS SO₃H. This membrane exhibited two endothermic peaks at 140 and 177°C. The first endothermic peak (1.58 J/g) is related to the transition for the ionic group and the second peak (305 J/g) to the transition to the crystalline regions associated with a new configuration for the ionic domain and the polymeric backbone (Guerrero-Gutiérrez et al., 2015). The incorporation of P4FS-b-PS-b-SO₃H modified in both the energy and the temperature required to produce endothermic transitions. The endothermic transitions for the ionic group shifted towards a higher temperature (147°C). However, the endothermic transition for the crystalline region shifted towards a lower temperature (168°C). The changes in temperature are related to the energy needed to overcome the crystalline bonding forces and changes in the molecular conformation of the chains in the polymer (Rosen, 1993) and confirm the differences in the ionic domain configuration shown above with the thermogravimetric results. SIBS SO₃H membranes with ion exchange capacity above 1 meq/g exhibit a nonperiodic morphology in the SAXS profile (Elabd

et al., 2006). The addition of homo fluoropolymers into SIBS SO₃H membranes changed its nonperiodic morphology; therefore, the ionic domain increased by 10.14% (Guerrero-Gutiérrez et al., 2015). This study provides valuable insight into the synergistic effects of the sulfonated trifluoroblock copolymer and the equilibrium properties of the blend membrane with an ion exchange capacity of 2.50 meq/g. However, the ionic domain size quantification induced by the P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H addition is out of the scope of this research.

The capacity of the membrane to absorb water is also related to the IEC (Ruiz-Colón et al., 2018). SIBS SO₃H exhibits a water swelling of 608%. Interestingly, SIBS SO₃H/P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H membrane absorbed a high amount of water. The membrane starts to dissolve after five minutes in water. This behavior was induced by a high sulfonation level and ion-exchanged capacity. Polymer membranes with similar sulfonation levels and IEC also dissolved in water (Pérez-Pérez & Suleiman, 2015). Moreover, the polymer composition of the fluoroblock copolymers could play a significant role in the water uptake and IEC. The addition of electron-withdrawing hydrophobic group (i.e., P4FS) to the polymer could affect the water uptake and IEC in a polymer electrolyte membrane (Shimura et al., 2008). Furthermore, a non-ionic block (PIB) can be designed to be a barrier for hydrophilic components and the block copolymer ionomer (sulfonated PS) to self-assemble into unique nanostructured morphology that may lead to different equilibrium and thermal properties (Elabd et al., 2003). An additional study about the effect of the chemical fluoroblock polymer composition could determine the role of each block separately on the thermal and equilibrium properties in the blend membrane.

Conclusion

A novel fluoro triblock copolymer was successfully synthesized using ATRP and cationic polymerization. The incorporation of P4FS-b-PS-b-PIB SO₃H into SIBS SO₃H possess a significant impact on the thermal stability of the membrane. Additionally, these modifications induced higher water absorption into the membrane. A morphological study using SAXS could confirm the new configuration for the ionic domain induced by the addition of the sulfonated fluoroblock copolymer into SIBS SO₃H. Additionally, an AFM and electronic microscope analysis in dry and

wet conditions need to be done to analyze the morphological changes in the membrane and its impact on the equilibrium properties. Moreover, proton conductivity is necessary to understand the transport properties in PEMs fuel cells; however, a crosslinking study is required first due to the high solubility of the membrane in water. Therefore, the addition of the sulfonated fluoroblock copolymer modified the crystalline domains, which influenced the EIC and the water uptake. These results would have significant implications on the design of blend membranes for PEMs applications.

References

- Ahmad, S., & Ahmed, S. K. M. (2014). Application of membrane technology in food processing. In A. Malik, Z. Erginkaya, S. Ahmad & H. Erten (Eds.), *Food Processing: Strategies for Quality Assessment* (pp. 379-394). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1378-7_15
- Alaswad, A., Palumbo, A., Dassisti, M., & Olabi, A. G. (2016). Fuel cell technologies, applications, and state of the art. A reference guide. In *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.04009-1>
- Avilés-Barreto, S. L., & Suleiman, D. (2013). Transport properties of sulfonated poly(styrene-isobutylene-styrene) membranes with counter-ion substitution. *Journal of Applied Polymer Science*, 129(4), 2294-2304. <http://dx.doi.org/10.1002/app.38952>
- Barreto, S. M. A., & Suleiman, D. (2010). Synthesis and characterization of sulfonated poly(styrene-isoprene-styrene): Effects of linear vs. branched morphology and counter-ion substitution. *Journal of Membrane Science*, 362(1-2), 471-477. <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2010.06.061>
- Elabd, Y. A., & Hickner, M. A. (2011). Block copolymers for fuel cells. *Macromolecules*, 44(1), 1-11. <https://doi.org/10.1021/ma101247c>
- Elabd, Y. A., Napadensky, E., Sloan, J. M., Crawford, D. M., & Walker, C. W. (2003). Triblock copolymer ionomer membranes: Part I. Methanol and proton transport. *Journal of Membrane Science*, 217(1-2), 227-242. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00127-3](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00127-3)

- Elabd, Y. A., Napadensky, E., Walker, C. W., & Winey, K. I. (2006). Transport properties of sulfonated poly(styrene-*b*-isobutylene-*b*-styrene) triblock copolymers at high ion-exchange capacities. *Macromolecules*, *39*(1), 399-407. <https://doi.org/10.1021/ma051958n>
- Guerrero-Gutiérrez, E. M. A., Pérez-Pérez, M., Newbloom, G. M., Pozzo, L. D., & Suleiman, D. (2017). Effect of block composition on the morphology and transport properties of sulfonated fluoroblock copolymer blend membranes. *Polymer Engineering and Science*, *57*(11), 1262-1272. <https://doi.org/10.1002/pen.24508>
- Guerrero-Gutiérrez, E. M. A., Pérez-Pérez, M., & Suleiman, D. (2015). Synthesis and characterization of sulfonated fluorinated block copolymer membranes with different esterified initiators for DMFC applications. *Journal of Applied Polymer Science*, *132*(23). <https://doi.org/10.1002/app.42046>
- Huang, Q., Cheng, Y., Zhang, S., Liu, H., & Liao, H. (2019). Blend proton exchange membranes with high performance based on sulfonated poly(arylene ether phosphine oxide)s and poly(vinylidene fluoride). *Journal of Materials Science*, *54*(6), 5176-5186. <https://doi.org/10.1007/s10853-018-03202-z>
- Jankova, K., & Hvilsted, S. (2003). Preparation of Poly(2,3,4,5,6-pentafluorostyrene) and block copolymers with styrene by ATRP. *Macromolecules*, *36*(5), 1753-1758. <https://doi.org/10.1021/ma021039m>
- Jankova, K., & Hvilsted, S. (2005). Novel fluorinated block copolymer architectures fuelled by atom transfer radical polymerization. *Journal of Fluorine Chemistry*, *126*(2), 241-250. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2004.11.002>
- Jung, B., Kim, B., & Yang, J. M. (2004). Transport of methanol and protons through partially sulfonated polymer blend membranes for direct methanol fuel cell. *Journal of Membrane Science*, *245*(1-2), 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.07.016>
- Kraytsberg, A., & Ein-Eli, Y. (2014). Review of advanced materials for proton exchange membrane fuel cells. *Energy & Fuels*, *28*(12), 7303-7330. <https://doi.org/10.1021/ef501977k>
- Kumari, M., Sodaye, H. S., Sen, D., & Bindal, R. C. (2018). Properties and morphology studies of proton exchange membranes based on cross-linked sulfonated poly (ether ether ketone) for electrochemical application: Effect of cross-linker chain length. *Solid State Ionics*, *316*, 75-84. <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2017.12.027>
- Kusoglu, A., Vezzù, K., Hegde, G. A., Nawn, G., Motz, A. R., Sarode, H. N., Haugen, G. M., Yang, Y., Seifert, S., Yandrasits, M. A., Hamrock, S., Maupin, C. M., Weber, A. Z., Di Noto, V., & Herring, A. M. (2020). Transport and morphology of a proton exchange membrane based on a doubly functionalized perfluorosulfonic imide side chain perfluorinated polymer. *Chemistry of Materials*, *32*(1), 38-59. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b05012>
- Kusoglu, A., & Weber, A. Z. (2017). New insights into perfluorinated sulfonic-acid ionomers. *Chemical Reviews*, *117*(3), 987-1104. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00159>
- Madaeni, S. S., Ghaemi, N., & Rajabi, H. (2015). Advances in polymeric membranes for water treatment. In A. Basile, A. Cassano, & N. K. Rastogi (Eds.), *Advances in Membrane Technologies for Water Treatment (Part One)*, pp. 3-41. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-121-4.00001-0>
- Mauritz, K. A., & Moore, R. B. (2004). State of understanding of Nafion. *Chemical Reviews*, *104*(10), 4535-4586. <https://doi.org/10.1021/crcr0207123>
- Matyjaszewski, K. (2012). Atom transfer radical polymerization (ATRP): Current status and future perspectives. *Macromolecules*, *45*(10), 4015-4039. <https://doi.org/10.1021/ma3001719>
- Ortiz-Negrón, A., & Suleiman, D. (2015). The effect of TiO₂ nanoparticles on the properties of sulfonated block copolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, *132*(41), 1-17. <https://doi.org/10.1002/app.42651>
- Peighambardoust, S. J., Rowshanzamir, S., & Amjadi, M. (2010). Review of the proton exchange membranes for fuel cell applications. *International Journal of Hydrogen Energy*, *35*(17), 9349-9384. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.05.017>

- Pérez-Pérez, M., & Suleiman, D. (2015). Transport properties of sulfonated poly(ether ether ketone) membranes with counter-ion substitution. *Journal of Membrane Science*, *493*, 414-427. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.06.017>
- Pérez-Pérez, M., & Suleiman, D. (2016). Effect of block composition on the morphology, hydration, and transport properties of sulfonated PS-b-PEGPEM-b-PS. *Journal of Applied Polymer Science*, *133*(48), 1-12. <https://doi.org/10.1002/app.44343>
- Perrier, S., Jackson, S. G., Haddleton, D. M., & Ameduri, B. (2002). Preparation of fluorinated methacrylic copolymers by copper mediated living radical polymerization. *Tetrahedron*, *58*, 4053-4059. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(02\)00274-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(02)00274-0)
- Rosen, S. (1993). *Fundamental Principles of Polymeric Materials* (2nd). Wiley Interscience Publication.
- Ruiz-Colón, E., Pérez-Pérez, M., & Suleiman, D. (2018). Influence of carboxylated and phosphonated single-walled carbon nanotubes on the transport properties of sulfonated poly(styrene-isobutylene-styrene) membranes. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, *56*(21), 2475-2495. <https://doi.org/10.1002/pola.29222>
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., & Ieropoulos, I. (2017). Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources*, *356*, 225-244. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>
- Seleem, S., Hopkins, M., Olivio, J., & Schiraldi, D. A. (2017). Comparison of thermal decomposition of polystyrene products vs. bio-based polymer aerogels. *Ohio Journal of Science*, *117*(2), 50-60. <https://doi.org/10.18061/ojs.v117i2.5828>
- Suleiman, D., Napadensky, E., Sloan, J. M., & Crawford, D. M. (2007). Thermogravimetric characterization of highly sulfonated poly(styrene-isobutylene-styrene) block copolymers: Effects of sulfonation and counter-ion substitution. *Thermochimica Acta*, *460*(1-2), 35-40. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2005.01.030>
- Shimura, T., Miyatake, K., & Watanabe, M. (2008). Poly(arylene ether) ionomers containing sulfofluorenyl groups: Effect of electron-withdrawing groups on the properties. *European Polymer Journal*, *44*(12), 4054-4062. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2008.09.017>
- Singh, R. (2015). Chapter 1-Introduction to Membrane Technology. In R. Singh (Ed.), *Membrane Technology and Engineering for Water Purification* (2nd, pp. 1-80). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63362-0.00001-X>
- Toman, L., Janata, M., Spěvácěk, J., Vlček, P., Látalová, P., Sikora, A., & Masař, B. (2005). Synthesis of methyl methacrylate, styrene, and isobutylene multiblock copolymers using atom transfer and cationic polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, *43*(17), 3823-3830. <https://doi.org/10.1002/pola.20884>
- Xie, H., Tao, D., Xiang, X., Ou, Y., Bai, X., & Wang, L. (2015). Synthesis and properties of highly branched star-shaped sulfonated block poly(arylene ether)s as proton exchange membranes. *Journal of Membrane Science*, *473*(0), 226-236. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.09.015>
- Ye, H., Li, D., Ye, X., Zheng, Y., Zhang, Z., Zhang, H., & Chen, Z. (2019). An adjustable permeation membrane up to the separation for multicomponent gas mixture. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43751-0>

Simulación de temperatura y precipitación estacional durante el período 1998-2000 en Centro América utilizando el modelo climático regional RegCM

Simulation of seasonal temperature and precipitation during the period 1998-2000 in Central America using the regional climate model RegCM

Paris Rivera^{1*}, Wener Ochoa², Bayron Gonzalez³

¹Instituto de Investigaciones de Ingeniería, Matemática y Ciencias Físicas, Universidad Mariano Gálvez de Guatemala (UMG), Guatemala, ²Programa de Doctorado en Cambio Climático y Sostenibilidad, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, ³Centro de Estudios Urbanos y Regionales, Universidad de San Carlos de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: parysryver@gmail.com

Recibido: 03 de mayo 2019 / Revisión: 11 de junio 2020 / Aceptado: 28 de agosto 2020

Resumen

Este documento presenta un análisis comparativo de los resultados de un modelo de simulación de clima, datos de reanálisis regionales y datos locales de precipitación y temperatura estacional de veintitrés estaciones meteorológicas de Guatemala, para detectar señales de la habilidad del modelo a reproducir el clima estacional en un periodo de 3 años (1998-2000). La simulación se realizó con un modelo climático regional (MCR), para su reducción de escala dinámica, las condiciones de frontera se obtuvieron de los datos de reanálisis ERA-Interim. El modelo utilizado fue RegCM, versión 4, y se comparó con los datos de precipitación y temperatura de la Base de datos CRU a nivel regional centroamericano y a nivel nacional con tres instituciones que generan datos globales (CRU, TRMM y GPCP) y los datos locales. Los esquemas convectivos utilizados fueron el esquema de Grell sobre tierra y Emanuel sobre el océano, con 50 km de resolución espacial. Los ajustes realizados a las parametrizaciones generaron buen desempeño a nivel regional Centroamericano y a nivel Guatemala a pesar de perder habilidad en algunas regiones y meses. El modelo reproduce adecuadamente el comportamiento de la precipitación estacional en la mayor parte de la temporada lluviosa. Subestima la temperatura a nivel regional, pero a nivel Guatemala muestra buen ajuste. La comparación con los datos locales observados muestra que el modelo se ajusta para el periodo en estudio; pero, es necesario realizar más experimentos con distintas resoluciones espaciales y temporales y evaluar la persistencia del modelo.

Palabras claves: Modelo climático regional, Guatemala, precipitación, temperatura

Abstract

This document presents the results of an analysis on the comparison of the results of a climate simulation model, regional reanalysis data and local data on precipitation and seasonal temperature from twenty-three meteorological stations in Guatemala, to detect signs of the ability of the model to reproduce the seasonal climate over a period of 3 years (1998-2000). The simulation was performed with a regional climate model (RCM), for its dynamic scale reduction, the boundary conditions were obtained from the ERA-Interim reanalysis data. The model used was RegCM, version 4, and it was compared with the precipitation and temperature data from the CRU Database at the Central American regional level and at the national level with three institutions that generate global data (CRU, TRMM and GPCP) and local data. The convective schemes used were the scheme of Grell on land and Emanuel on the ocean, with 50 km of spatial resolution. The adjustments made to the settings generated good performance at the Central American regional level and at the Guatemala level, despite losing skill in some regions and months. The model adequately reproduces the behavior of seasonal precipitation in most of the rainy season. It underestimates the temperature at the regional level but at the Guatemala level it shows a good fit. The comparison with the observed local data shows that the model fits for the period under study, but it is necessary to carry out more experiments with different spatial and temporal resolutions and to evaluate the persistence of the model.

Keywords: Regional climate model, Guatemala, precipitation, temperature



Introducción

Los modelos climáticos regionales (MCR) tienen una mejor resolución espacial que un modelo de circulación general o global (GCM), ya que puede representar mejor la relación entre la atmósfera y la superficie de la tierra y demás componentes del sistema climático. Por lo tanto, los MCR son muy útiles para simular el clima a escala regional e incluso local. Uno de los objetivos finales de un modelo climático es poder ser utilizado para realizar pronósticos, dependiendo de la capacidad del mismo para simular el clima pasado y también proyecciones a futuro. La predicción del clima estacional se puede realizar mediante la utilización de modelos globales o regionales. Los modelos climáticos regionales permiten lograr predicciones más precisas que los modelos globales, ya que tienen una mejor resolución horizontal y parametrizaciones para determinar procesos atmosféricos a menor escala (Reboita et al., 2018), estas simulaciones del clima tienen como función lograr predicciones climáticas en un determinado año o tiempo, como en su comportamiento, mayor o menor (Baker & Huang, 2014).

De acuerdo con Giorgi (1990), el inicio de las simulaciones con el RegCM se remonta al 1990, cuando se realizó una simulación numérica de un mes en el oeste de los EE. UU. Con RegCM se descubrió que el modelo puede simular con éxito la distribución espacial de temperatura y precipitación. El enfoque de modelado climático regional es útil para mejorar la comprensión de muchos procesos climáticos, como el forzamiento de radiación de nubes, la convección de cúmulos y los procesos de superficie terrestre (Yang et al., 2018).

El RegCM se ha utilizado para varias simulaciones numéricas en las últimas décadas. Algunos estudios verifican la capacidad del modelo para la simulación climática, la proyección climática futura, la prueba de sensibilidad del modelo, la simulación de eventos climáticos extremos o el examen de algunos procesos físicos específicos; como por ejemplo, (Widmann et al., 2003) utilizaron la salida de la simulación para predicción climática en Estados Unidos. (van den Hurk & van Meijgaard, 2010), simularon el clima en África Occidental y evaluaron la precipitación y la temperatura (Gianotti & Eltahir, 2014), simularon experimentos de parametrizaciones de la convección de la precipitación en Oceanía. Wang y colaboradores (2015) utilizó el RegCM para estudiar los efectos de diferentes esquemas de superficie terrestre en la si-

mulación de precipitación en la meseta tibetana. Descubrieron que la elección del esquema de superficie terrestre tuvo un impacto significativo en los resultados de la simulación.

Actualmente existen investigaciones sobre simulaciones con el MCR para Centro América, y en las cuales experimentan la simulación de la temperatura y la precipitación y utilizando el modelo RegCM, del Centro Internacional de Física Teórica de Trieste (ICTP) (Diro et al., 2012) y el Servicio Meteorológico del Reino Unido (Karmalkar et al., 2011), La Universidad de Costa Rica (Amador et al., 2018), del Departamento de Oceanografía Física de Ensenada, México, del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (Fuentes-Franco et al., 2014), del Experimento Coordinado de Reducción Climática Regional (CORDEX) Cavazos y colaboradores (2020), así como algunos estudios que reconocen que hay diversas fuentes de incertidumbre en dichas simulaciones (García-Díez et al., 2013) del Grupo de Meteorología de Santander, quienes abordan este tipo de estudios desde un enfoque multidisciplinar.

Estos estudios dan una buena idea de cómo abordar los estudios nacionales, mostrando que cuando una parametrización es lo más ajustada posible en una región, otra es desajustada, por lo tanto, es necesario de varias simulaciones para encontrar la adecuada para cada región en estudio.

Materiales y métodos

En este estudio se utilizó el modelo climático regional RegCM del ICTP, (Giorgi et al., 1993), para realizar 3 años de simulación para Centro América con un esquema convectivo combinado; Emanuel sobre océano y Grell sobre tierra (Dickinson et al., 1993; Grell, 1993; Emanuel, 1991). El periodo de tiempo seleccionado se hizo debido a que en esos años sucedieron varios fenómenos climáticos y meteorológicos significativos que influyeron en el comportamiento climático de la región Centroamericana y particularmente en Guatemala, como el fenómeno del niño y el huracán Mitch. Así mismo se identificó la capacidad del modelo para simular la precipitación y la temperatura de la superficie y se comparó con las salidas de modelos globales y datos locales de Guatemala.

Inicialmente se procedió a conocer las ecuaciones básicas de todo el modelo climático, derivadas del conjunto completo de leyes de conservación de momento, masa, energía y humedad que gobiernan

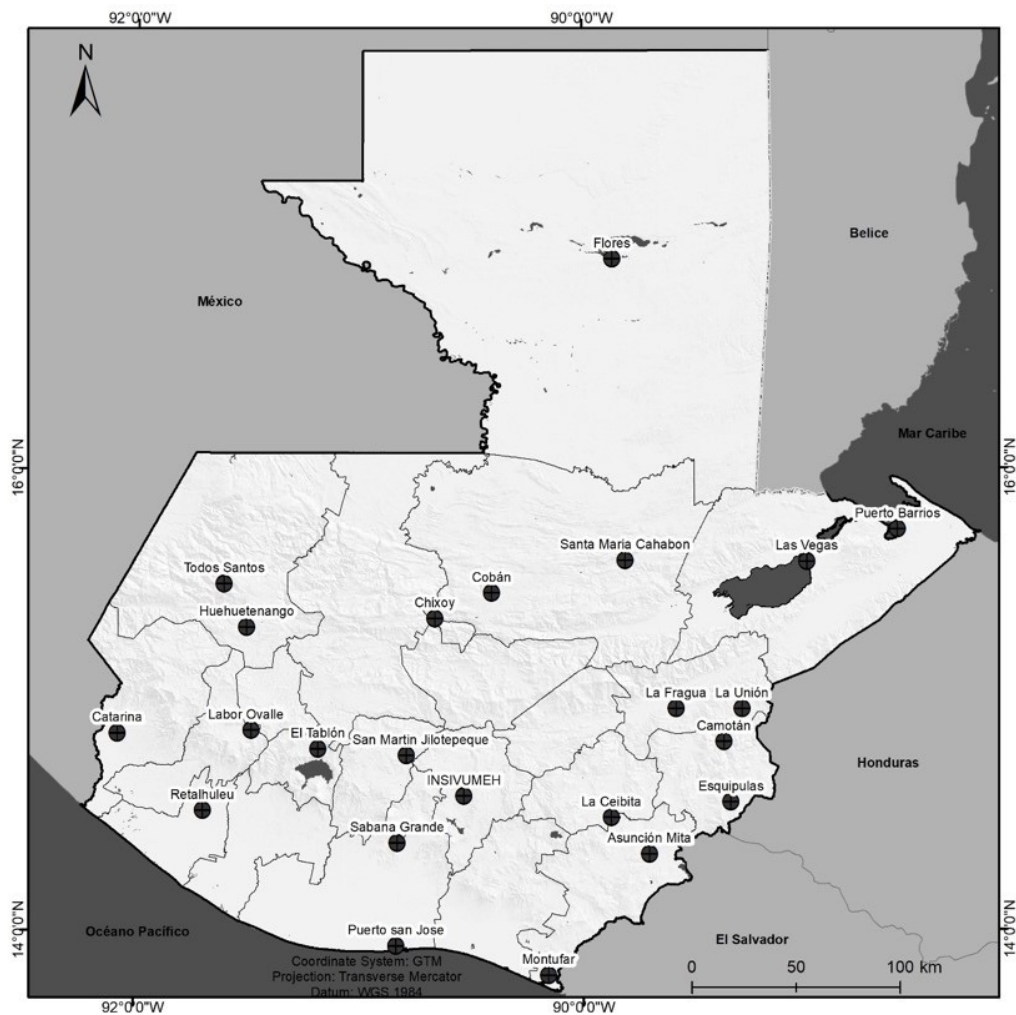
los cambios en el movimiento y la termodinámica de la atmósfera. Además de conocer las parametrizaciones de la convección para estimación de lluvia que tiene el modelo, es decir la parte que el modelo no resuelve explícitamente, y que se agrupan con el término “física del modelo”. También se conocen con el nombre de “procesos a escala por debajo de la rejilla” (*subgrid-scale*). Este modelo contribuyó con la generación de información de temperatura y precipitación en áreas importantes de actividad agrícola en Guatemala, lo cual permite deducir posibles efectos en esta actividad, desde el punto de vista económico para el país.

Se usaron datos de reanálisis Era_Interim y se comparó con los resultados de modelos globales como la Unidad de Investigación de Clima de Inglaterra (CRU), la Misión de Medición de lluvias tropicales de la NASA (TRMM), el Proyecto de Climatología sobre Precipitaciones Globales (GPCP) y el promedio para Guatemala de 23 estaciones locales del Instituto Nacional de Vulcanología, Sismología, Meteorológica e Hidrología (Insivumeh), de Guatemala (Figura 1).

Se procedió a delimitar el modelo para la región centroamericana, utilizando como base el tiempo descrito anteriormente (1998 a 2000). Esto con el fin

Figura 1

Estaciones locales del Instituto Nacional de Vulcanología, Sismología, Meteorológica e Hidrología (INSIVUMEH), de Guatemala



de demostrar que el modelo reproduce los periodos climatológicos estacionales de una región y a su vez calibrarse para un mejor ajuste climático. Primero, se procedió a determinar para Centroamérica donde se incluye el país. Segundo, se utilizaron las condiciones del modelo por defecto sin ningún cambio, para luego realizar algunas variaciones. Finalmente, se realizó la simulación para el periodo correspondiente a los años 1998, 1999 y 2000. Se utilizaron dos parametrizaciones principales: Grell y Emmanuel, uno sobre tierra y otro sobre el océano, respectivamente.

Las comparaciones fueron descritas a través de mapas de relación BIAS de temperatura y precipitación. Estos mapas fueron realizados utilizando el programa gráfico GRADS y algoritmos proporcionados por ICTP para temperatura y precipitación, los cuales consisten en generar las diferencias por medio de una resta entre el resultado obtenido del modelo y la base de datos CRU para las variables de precipitaciones y temperatura. Los periodos estacionales fueron (DJF) correspondiente a los meses diciembre, enero y febrero, (MAM) correspondiente a marzo, abril y mayo, (JJA) correspondiente a junio, julio y agosto, y (SON) correspondientes a septiembre octubre y noviembre. A nivel nacional, se realizaron gráficas comparativas del ciclo anual promedio para precipitación entre el modelo RegCM, CRU, GPCP, TRMM y el promedio de 23 estaciones nacionales de Guatemala, para la variable de temperatura solo se comparó con los datos CRU, modelo y estaciones nacionales.

El procedimiento consistió en realizar varias simulaciones con diferentes condiciones para cada una, con el fin de evaluar la sensibilidad de modelo ante cambios en las parametrizaciones y mejorar el ajuste de las simulaciones a los datos CRU. En este marco, se describen los cinco experimentos que dieron como resultado el mejor ajuste al modelo. Para el primer experimento se modificaron las parametrizaciones por defecto del modelo. El segundo, se relaciona con el calor sensible (shr), utilizado para describir la relación entre la carga de calor sensible y la carga de calor total. Se modificó el parámetro (edt) de máxima eficiencia de precipitación sobre tierra. En el tercer experimento, se modificó la parametrización de nubes tipo cúmulos (dtauc) (Fritsch & Chappell, 1980). El cuarto experimento consideró todos los cambios realizados anteriormente y la modificación de (coeffr) coeficiente de la tasa de evaporación de lluvia. El quinto experimento utilizó todos los cambios más un ajuste del parámetro (dtauc). La condición general básica fue utilizar el esquema de

precipitación Grell sobre tierra y el esquema de parametrización de precipitación Emanuel sobre el océano.

Resultados

La precipitación modelada por RegCM se ajusta muy bien al comportamiento climático de Guatemala, comparada con los datos generados por CRU. Pero con unos incrementos significativos en septiembre (Figuras 1 a 4). La temperatura modelada tiene valores bajos en comparación con la CRU. Los gráficos BIAS con CRU presenta menos diferencia en el centro y sur de Guatemala, pero no en el norte, donde hay diferencias del 50% en los periodos DJF y SON. Los periodos MAM y JJA no se ajustaron muy bien; más del 50% tenían diferencias. Se modela muy bien en el principio y en el final del año. Con respecto a la temperatura, las diferencias son más bajas en la primera parte del año.

La segunda condición, presenta menos lluvia, porque aumenta la evaporación en la parte del océano. Esto debido a que la simulación generó un aumento de temperatura a mitad de año. El resultado de la temperatura fue muy similar a la primera condición, y el porcentaje de precipitación presentó menos diferencias en los cinco primeros meses, y las diferencias del 50% en los demás.

La tercera condición, se acerca a los valores de lluvia de CRU en los primeros meses del año, pero pierde la relación a mediados de año. Incluso los mapas generados presentan menos diferencias en la lluvia. La temperatura obtenida es igual a la de los demás experimentos previos.

La cuarta condición, pretende modificar la primera condición, que tiene buena relación, aumentando solo la temperatura. Se modifica el coeficiente de energía (Fritsch & Chappell, 1980) para ver si la energía puede aumentar la temperatura, pero no demasiado la lluvia. La temperatura se ajustó bastante, pero la lluvia perdió la relación de la climatología en el mes de julio.

La quinta y última condición, fue la que presentó mejor ajuste a los datos CRU, ya que los resultados muestran un buen desempeño, aunque se puede mencionar que el modelo RegCM4 subestima la precipitación y la temperatura de CRU levemente, a nivel regional y nacional.

Finalmente, se presentan las salidas del mejor ajuste para Centroamérica en mapas BIAS, comparando precipitación y temperatura, en donde se puede apreciar los meses en que existe una mejor simulación

del modelo. Los colores claros significan que el modelo se ajusta bastante bien a los datos CRU, un color oscuro achurado con líneas, subestima los valores y un color oscuro lizo sobreestima los valores de precipitación. La escala varía desde -10 mm/día a +10 mm/día, en el caso de la tasa de precipitación (intensidad diaria de precipitación) y de -100% a +100% en el caso de porcentaje de lluvia.

A nivel regional Centroamericano, la simulación para los meses de diciembre, enero y febrero, el invierno en el hemisferio norte, presenta el mejor ajuste. Centroamérica se ajusta muy bien, gran parte de México y el sur de los Estados Unidos de Norteamérica. Se pueden notar las áreas claras que representan los mejores ajustes entre el modelo y los datos de CRU, aunque algunas excepciones como el norte de Suramérica, quedan sobrestimados en este trimestre (Figura 2).

Los meses de MAM se observa en Centroamérica una subestimación del modelo respecto a CRU, se observan en algunas regiones lo contrario, es decir sobrestimación de precipitación en la región del Atlántico de México parte norte de Suramérica y la región sur y sureste de los Estados Unidos de Norteamérica (Figura 3).

Los meses de menor ajuste del modelo respecto a CRU son los meses de junio, julio y agosto en donde, a nivel Centroamericano se queda muy por debajo de la precipitación de CRU, así mismo, se ven áreas similares en el sur de los Estados Unidos de Norteamérica y del norte de Suramérica. En este trimestre los contrastes entre valores superiores e inferiores al CRU son muy marcados, existiendo pocas regiones de buen ajuste (áreas de colores claros). Se puede mencionar que en este periodo el modelo sobreestima la sequía de medio verano, la cual se presenta en este trimestre (Figura 4).

En los meses de septiembre octubre y noviembre, es decir la estación de otoño en el hemisferio norte, se nota que el modelo sobrestima la lluvia en casi toda la parte del Pacífico de Centroamérica y se queda muy por debajo de la precipitación en las islas del Caribe y parte del norte de Suramérica (Figura 5).

En el caso de la temperatura, los mapas generados presentan un color oscuro achurado con líneas los meses en que el modelo subestima la temperatura, y en color oscuro lizo donde la sobreestima. En el caso de Centroamérica, se puede ver que predomina una subestimación del modelo respecto a CRU. Pero en el caso

Figura 2

Diferencia de precipitación estacional entre RegCM4 y CRU de los meses de diciembre, enero y febrero (DJF); (a) tasa de precipitación mm/día; (b) % de precipitación trimestral

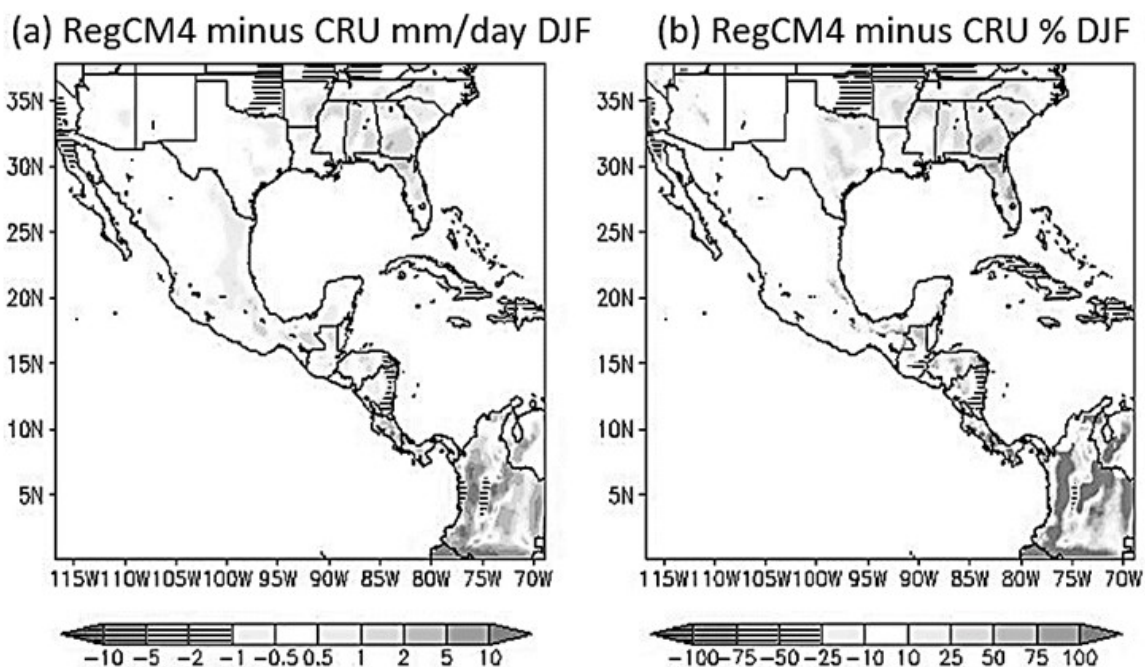


Figura 3

Diferencia de precipitación estacional entre RegCM4 y CRU de los meses de marzo, abril y mayo (MAM); (a) tasa de precipitación mm/día; (b) % de precipitación trimestral

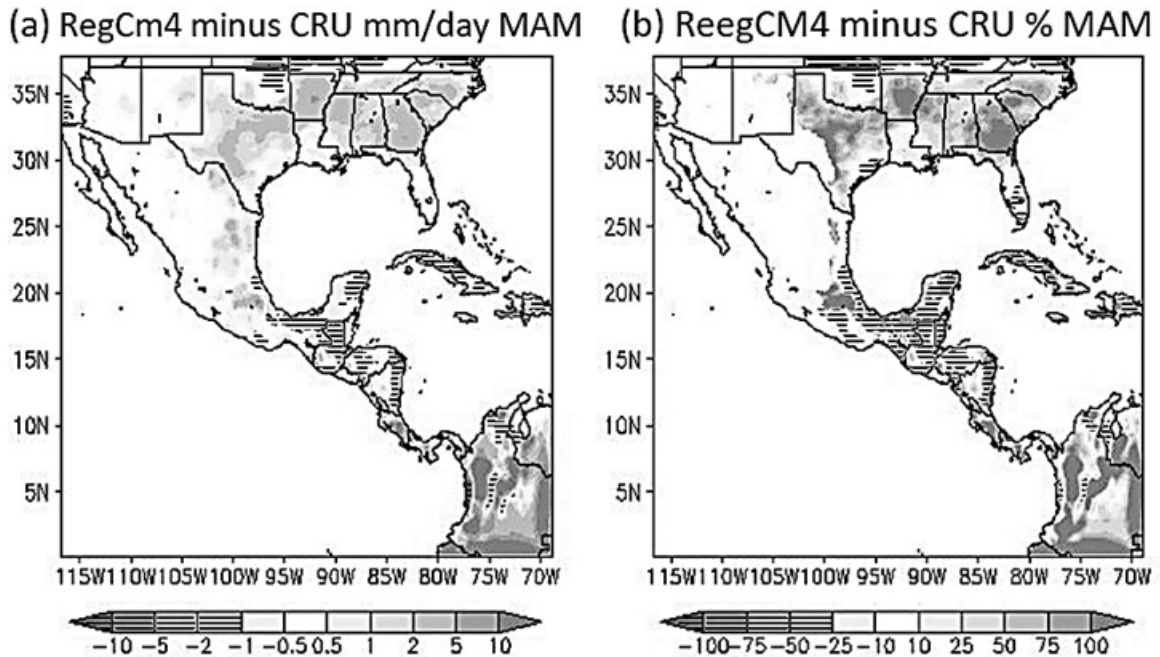


Figura 4

Diferencia de precipitación estacional entre RegCM4 y CRU de los meses de junio, julio y agosto (JJA); (a) tasa de precipitación mm/día; (b) % de precipitación trimestral

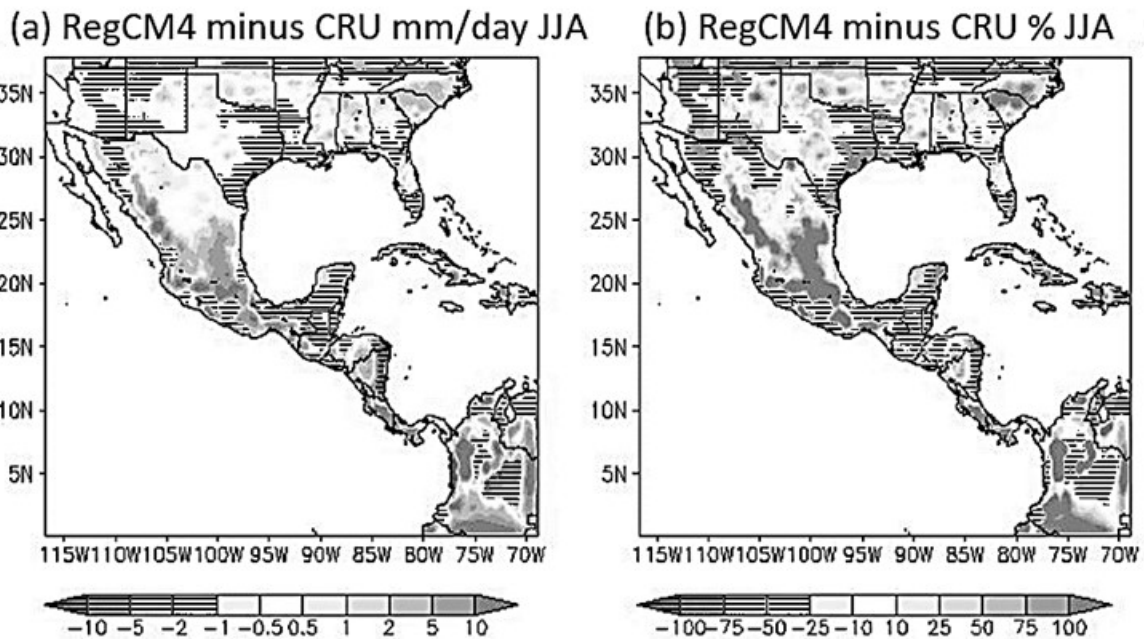


Figura 5

Diferencia de precipitación estacional entre RegCM4 y CRU de los meses de septiembre, octubre y noviembre (SON); (a) tasa de precipitación mm/día; (b) % de precipitación trimestral

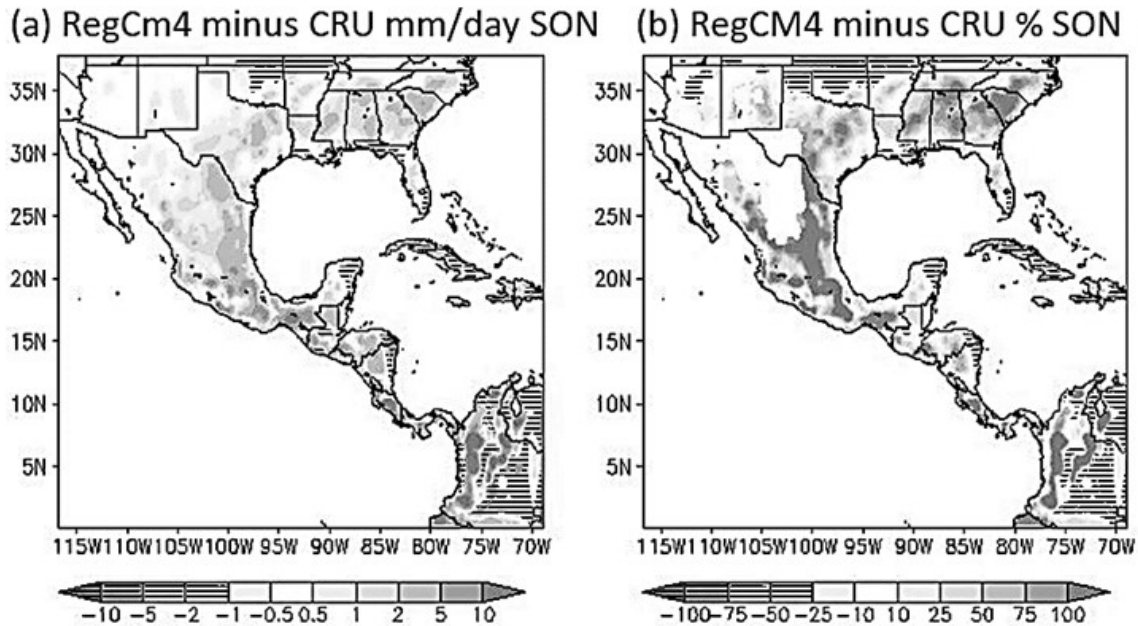
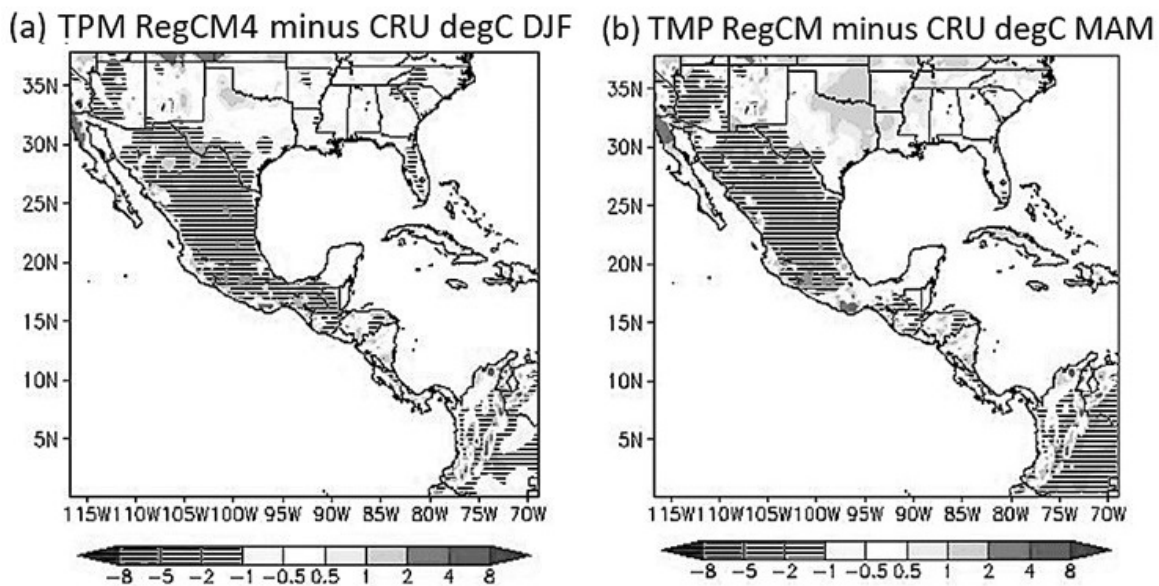


Figura 6

Diferencias estacionales de temperatura media trimestral, °C, entre el modelo RegCM4 y CRU; (a) periodo de los meses de diciembre, enero y febrero (DJF); (b) periodo de los meses de marzo, abril y mayo (MAM)



de Guatemala, se puede observar que la región oeste del país, el ajuste al modelo CRU es aceptable, aunque en las demás regiones predomina una subestimación de temperatura (Figuras 6 y 7).

La temperatura a nivel regional, durante los meses de diciembre, enero y febrero muestra que el modelo se queda frío o pierde habilidad en gran parte de Centroamérica, principalmente en el territorio de México. Algunas áreas del sur de Estados Unidos de Norteamérica se ajustan muy bien en este periodo de invierno. En los meses de marzo, abril y mayo el modelo sigue frío en gran parte de México y Centroamérica, así como el norte de Suramérica, algunas regiones se muestran cálidas en Norte América y pocas áreas con un buen ajuste como por ejemplo los istmos de México y de Estados Unidos en el golfo de México (Figura 6).

El trimestre junio, julio y agosto se nota un contraste muy marcado entre las áreas frías y cálidas que generó el modelo, gran parte de México sigue fría, al igual que algunas áreas en Centroamérica, pero se puede notar áreas cálidas al sur de los Estados Unidos de Norteamérica. El Caribe se presenta cálido y se presentan algunas áreas de buen ajuste en Centroamérica, principalmente en Honduras y parte de Nicaragua.

Finalmente, siempre a nivel regional en los meses de septiembre octubre y noviembre, el modelo es frío en la mayoría de la región, los mejores ajustes se dan en el Caribe (Figura 7).

En general el modelo es frío a nivel regional, las diferencias de temperatura varían entre 2 a 4 grados Celsius.

A nivel nacional, se compara espacialmente la precipitación en mm/día con las estaciones locales y la salida del modelo RegCM, se puede mencionar lo siguiente: la precipitación en los meses de diciembre, enero y febrero el modelo se ajusta muy bien a las tasas de precipitación nacional, las cuales tienen promedio de 1mm/día, el modelo obtuvo rangos entre 1 y 2 mm/día. Para los meses de marzo abril y mayo el modelo sobrestima la precipitación, ya que arroja valores de 24 mm/día cuando a nivel nacional las estaciones muestran tasas de 1 a 2 mm/día. En el trimestre junio, julio y agosto, cuando se presenta la sequía de medio verano en Centroamérica el modelo se ajusta muy bien, principalmente en la región sur del país, las tasas nacionales en promedio de 7 mm/día y el modelo arroja rangos entre 4 y 6 mm/día. Finalmente, en los meses de septiembre, octubre y noviembre el modelo

Figura 7

Diferencias estacionales de temperatura media trimestral, °C, entre el modelo RegCM4 y CRU; (a) periodo de los meses de junio, julio y agosto (JJA); (b) periodo de los meses de septiembre, octubre y noviembre (SON)

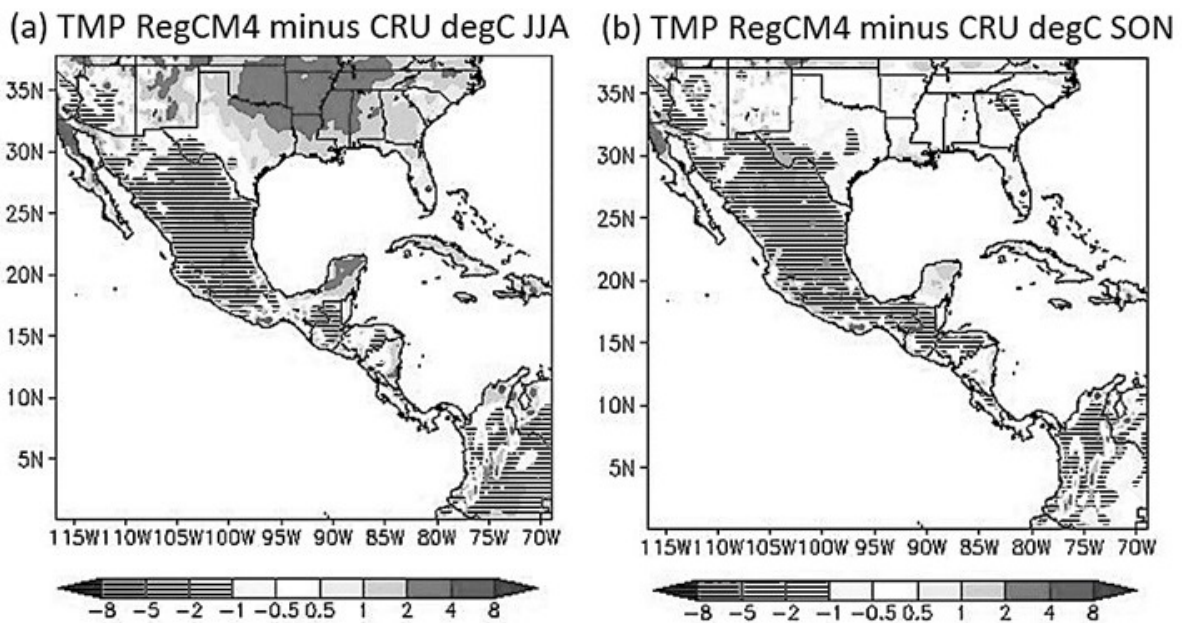


Figura 8

Comparativo de precipitación mm/día para el trimestre de diciembre, enero y febrero; (a) 23 estaciones locales de Guatemala; (b) RegCm4

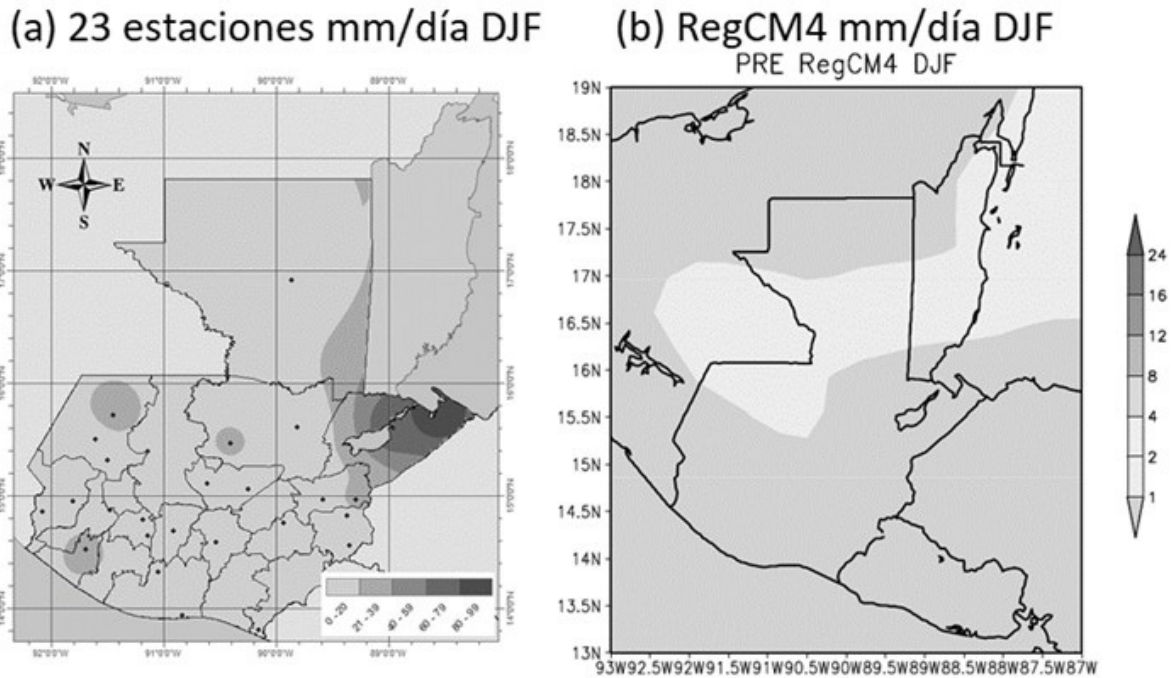


Figura 9

Comparativo de precipitación mm/día para el trimestre de marzo, abril y mayo: (a) 23 estaciones locales de Guatemala; (b) RegCM4

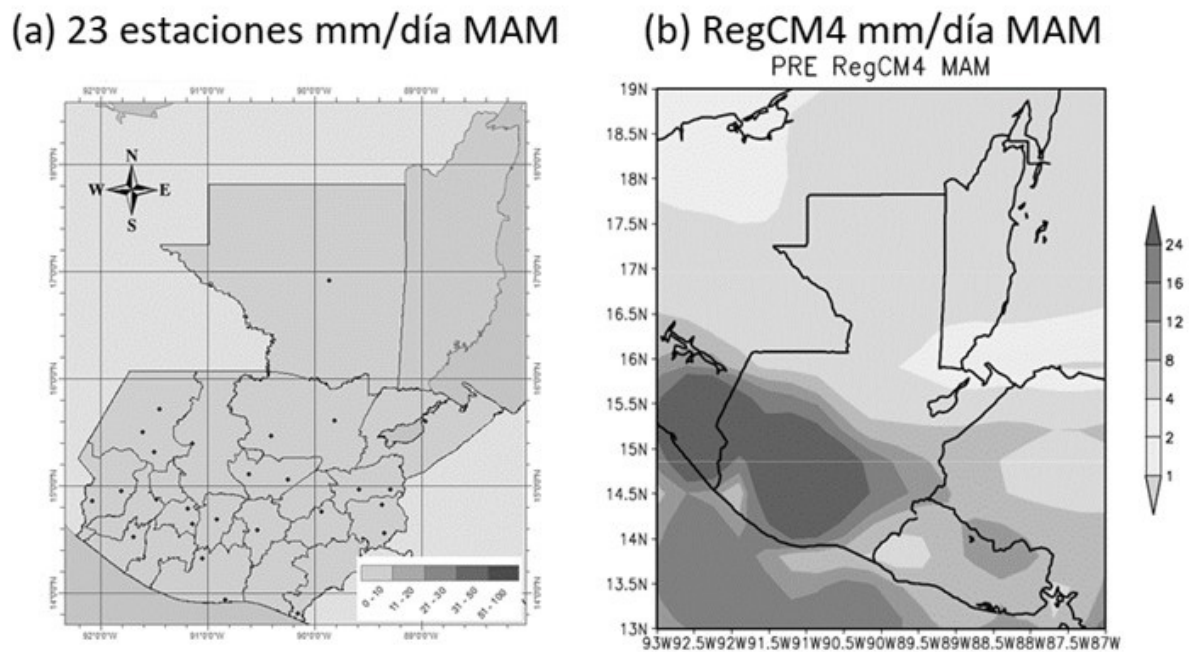
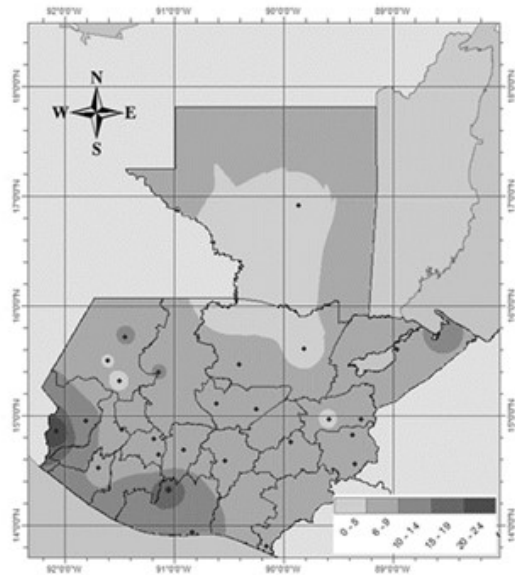


Figura 10

Comparativo de precipitación mm/día para el trimestre de junio, julio y agosto: (a) 23 estaciones locales de Guatemala; (b) RegCM4

(a) 23 estaciones mm/día JJA



(b) RegCM4 mm/día JJA

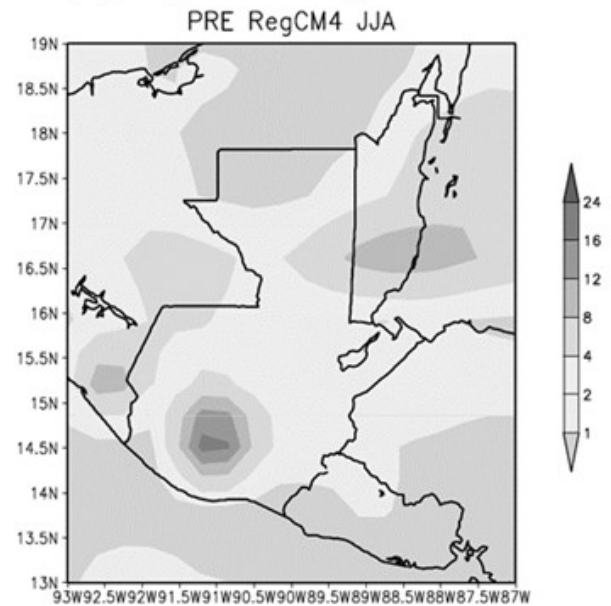
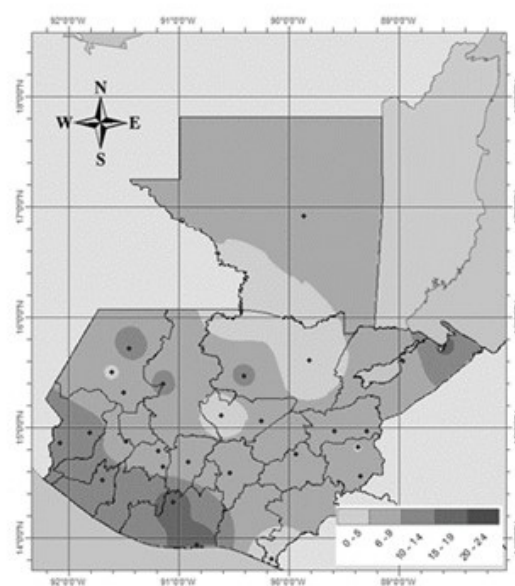


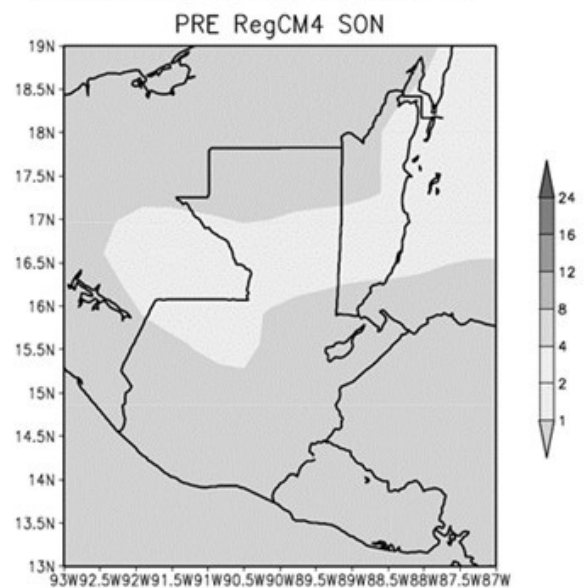
Figura 11

Comparativo de precipitación mm/día para el trimestre de septiembre, octubre y noviembre; (a) 23 estaciones locales de Guatemala; (b) RegCM4

(a) 23 estaciones mm/día SON



(b) RegCM4 mm/día SON



se queda por debajo de las tasas nacionales, las cuales se encuentran entre los 7 mm/día y el modelo da un rango de entre 1 a 2 mm/día (Figuras 8, 9, 10 y 11).

A nivel nacional, se puede observar que la precipitación simulada sobrestima los meses de septiembre y octubre, pero se ajusta muy bien en los demás meses. Se puede mencionar también que las estaciones locales de Guatemala de los 3 años (ciclo anual promedio) es más parecida a los datos climáticos TRMM, como se muestra en las series comparadas de la Figura 12.

En el caso de la temperatura, el modelo RegCM se ajustó muy bien a la parte media del año (mayo a septiembre) en comparación con la climatología de las estaciones de Guatemala, no así en los demás meses, en los que subestima los valores (Figura 13).

Discusión

La simulación se realizó anidando un modelo regional dentro de un modelo climático global, lo cual permitió determinar la plausibilidad del sesgo húmedo, que tienen la mayoría de los modelos. Es importante mencionar que tanto la región centroamericana, en especial Guatemala, no cuenta con suficientes datos de precipitación y temperatura en áreas importantes de producción agrícola, por lo tanto, es ahí donde radica la importancia del modelo, el cual nos permite generar datos de precipitación y temperatura para estas áreas significativas, desde el punto de vista económico y productivo.

Figura 12

Comparativos de tasa de precipitación, ciclo anual de la salida del modelo RegCM4, datos CRU, TRMM, GPCP y promedio de 23 estaciones locales en Guatemala

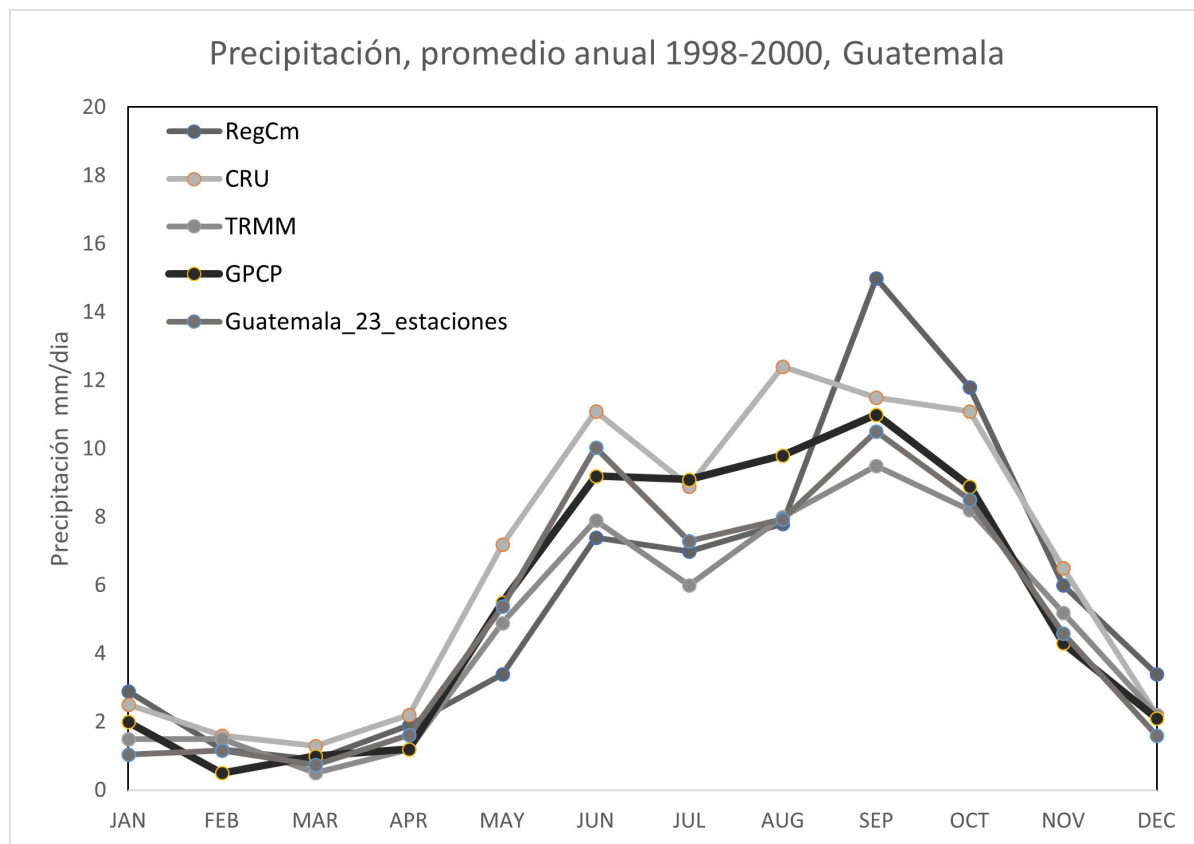
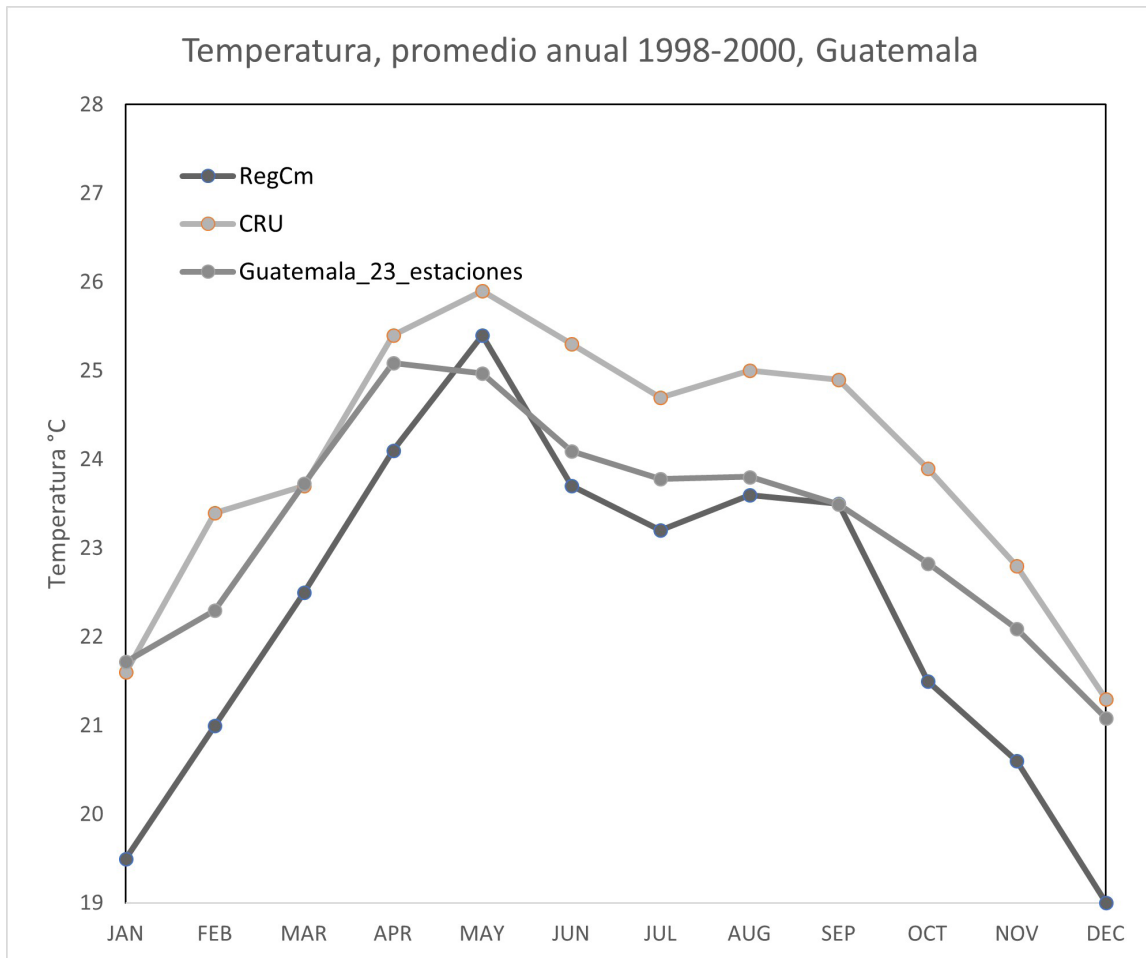


Figura 13

Comparativos de temperatura promedio, ciclo anual de la salida del modelo RegCM4, datos CRU, TRMM, GPRCP y promedio de 23 estaciones locales en Guatemala



La sobreestimación de la precipitación acumulada anual de septiembre-octubre y la subestimación de la temperatura posiblemente se deba a que los modelos no simulan de manera adecuada la zona de convergencia intertropical y otros procesos regionales (Cavazos et al., 2013).

A pesar de las diferencias obtenidas de los modelos CRU, TRMM, GPCO y RegCM, para la región de Centroamérica y Guatemala en específico; se observó que todos coinciden con el indicio a la reducción de la precipitación y el aumento de la temperatura, coincidiendo también con los resultados de la mayoría de las proyecciones realizadas para el sur de Europa según lo describe (Giorgi & Lionello, 2007).

Los datos observados no se ajustan del todo a los datos generados por CRU, por lo tanto, las comparaciones con las simulaciones fueron sesgadas a un ajuste hacia datos de reanálisis y no hacia datos locales.

Los experimentos realizados muestran la sensibilidad del modelo cuando se realizan algunos cambios en la configuración. De manera general se puede mencionar que la simulación en temperatura para los periodos estacionales en Guatemala, presenta buena habilidad en la región del Altiplano de Guatemala, con buena cobertura en áreas de montaña, a diferencia de lo detectado por las áreas planas con menos cobertura, en el estudio de sensibilidad del modelo RegCMen Centroamérica y el Caribe (Vichot-Llano et al., 2014);

pero esto puede ser explicado por los cambios en el dominio y resolución en los experimentos realizados en ese estudio.

Se estima que lo detectado en las simulaciones en el comportamiento de la lluvia, donde se encontró un buen ajuste en la parte inicial de la temporada de lluvias y no en la parte final, puede ser explicado por los cambios en la variabilidad interanual de la precipitación y la temperatura, para lo cual el modelo RegCM logra detectar esos cambios en un estudio realizado en México y América Central de las proyecciones RegCM (Fuentes-Franco et al., 2013).

Así mismo, se estima que los cambios interanuales en el comportamiento bajo efectos del fenómeno del Niño pudieron sesgar los resultados debido a que el 1998 representó uno de los fenómenos del Niño más importantes en los últimos años, además de presentarse un huracán a finales de la temporada de lluvia.

Con el modelo se pueden realizar mejores estudios sobre el cambio climático en Guatemala, pero se necesita previamente de estudios con la climatología general del país y compararla con la climatología simulada por el modelo RegCM, entonces se podrá proyectar diferentes escenarios en el futuro. En términos generales, el modelo puede ser ajustado a una climatología local. Gracias al comparativo con datos locales de Guatemala, se concluye que durante los meses de septiembre y octubre el modelo sobreestima la precipitación acumulada anual, requiriendo futuras simulaciones para ajustar mejor el modelo. En el caso de temperatura el modelo subestimó la temperatura en los últimos tres meses del año, pero se ve un buen ajuste para la región del oeste del país, requiriendo también futuras simulaciones para lograr un mejor ajuste, además de simular un mayor número de años.

Los modelos climáticos regionales (MCR) tienen como objetivo generar predicciones climáticas a mayor resolución que los modelos de circulación global. Estos permiten realizar investigaciones, utilizando como condiciones de frontera las salidas de modelos o sistemas de reanálisis de escala global de baja resolución, generados en los grandes centros de modelación climáticos de los países desarrollados (Giorgi & Mearns, 1991).

Al tener aumentos de temperatura y disminución de precipitación, aumentan las posibilidades de mayor aridez en la región, lo cual sucedió en el periodo en estudio en Centroamérica, por lo que, si un modelo pudo reproducir en términos generales esas variaciones, se puede intentar utilizarlo para generar pronósticos climá-

ticos futuros que puedan advertir situaciones de menor disponibilidad de agua para la población y para los ecosistemas en general, así como modificaciones en el ciclo hidrológico y fenológico de las plantas, afectando de esta manera el sector agrícola. De acuerdo con López Moreno y Vicente Serrano (2008), existen altas posibilidades que estas alteraciones obliguen a introducir cambios importantes en la estacionalidad, manejo agronómico e incluso en la selección de las especies en aquellos cultivos particularmente sensibles a las condiciones térmicas. También visualizan desde ya, la gestión integrada del recurso hídrico como una estrategia a considerar en el marco de la sostenibilidad del uso de este líquido vital en todas las áreas de la vida.

Finalmente, ante estas simulaciones encontradas se hace necesario remarcar la gestión del agua como algo imperativo para la región y empezar a utilizar más los pronósticos climáticos para mejorar las técnicas y tecnologías de ahorro de agua, ya que identificará áreas con problemática hídrica.

Referencias

- Amador, J. A., Ambrizzi, T., Arritt, R. W., Castro, C. L., Cavazos, T., Cerezo-Mota, R., Fuentes-Franco, R., Giorgi, F., Guiliani, G., Lee, H., Méndez-Pérez, M., & Rivera, E. R. (2018). Putting into action the REGCM4.6 regional climate model for the study of climate change, variability and modeling over Central America and Mexico. *Atmosfera*, 31(2), 185-188.
- Baker, N. C., & Huang, H.-P. (2014). A comparative study of precipitation and evaporation between CMIP3 and CMIP5 climate model ensembles in semiarid regions. *Journal of Climate*, 27(10), 3731-3749. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-13-00398.1>
- Cavazos, T., Luna-Niño, R., Cerezo-Mota, R., Fuentes-Franco, R., Méndez, M., Pineda Martínez, L. F., & Valenzuela, E. (2020). Climatic trends and regional climate models intercomparison over the CORDEX-CAM (Central America, Caribbean, and Mexico). *International Journal of Climatology*, 40(3), 1396-1420. <https://doi.org/10.1002/joc.6276>
- Cavazos, T., Salinas, J., Martínez, B., Colorado, G., de Grau, P., Prieto-González, R., Conde Álvarez, A. C., Quintanar Isaías, A., Santana Sepúlveda, J.

- S., Romero Centeno, R., Maya Magaña, M. E., Rosario de La Cruz, Ma. del R., Ayala Enríquez, Carrillo Tlazazanatza, H., Santiesteban, O., & Bravo, M. (2013). *Actualización de escenarios de cambio climático para México como parte de los productos de la Quinta Comunicación Nacional*. México, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.
- Dickinson, R., Henderson-Sellers, A., & Kennedy, P. (1993). *Biosphere-Atmosphere Transfer Scheme (BATS) version le as coupled to the NCAR community climate model. Technical note*. [NCAR (National Center for Atmospheric Research)]. Recuperado de <https://www.osti.gov/biblio/5733868>.
- Diro, G. T., Rauscher, S. A., Giorgi, F., & Tompkins, A. M. (2012). Sensitivity of seasonal climate and diurnal precipitation over Central America to land and sea surface schemes in RegCM4. *Climate Research*, 52(1), 31-48. <https://doi.org/10.3354/cr01049>.
- Emanuel, K. A. (1991). A scheme for representing cumulus convection in large-scale models. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 48(21), 2313-2329. [https://doi.org/10.1175/15200469\(1991\)048<2313:ASFRC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/15200469(1991)048<2313:ASFRC>2.0.CO;2)
- Fuentes-Franco, R., Coppola, E., Giorgi, F., Graef, F., & Pavia, E. G. (2014). Assessment of RegCM4 simulated inter-annual variability and daily-scale statistics of temperature and precipitation over Mexico. *Climate Dynamics*, 42(3-4), 629-647. <https://doi.org/10.1007/s00382-013-1686-z>.
- Fuentes-Franco, R., Coppola, E., Tefera Diro, G., Giorgi, F., Pavia, E. G., & Graef, F. (2013). Changes in inter-annual variability of precipitation and temperature over Mexico and Central America from RegCM projections. *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 15. <https://doi:10.1007/s00382-014-2258-6>.
- Fritsch, J., & Chappell, C. (1980). Numerical Prediction of Convectively Driven Mesoscale Pressure Systems. Part I: Convective Parameterization. *Journal of The Atmospheric Sciences*, 37(8), 1722-1733.
- García-Díez, M., Stegehuis, A., Magariño, M. E., Vautard, R., & Fernández, J. (2013). *Using multi-physics ensembles to explore sources of uncertainty in the climate system. 1*, 22158. https://www.meteo.unican.es/files/posters/2013_Garcia-Diez_CORDEX_Brussels.pdf
- Gianotti, R. L., & Eltahir, E. A. (2014). Regional climate modeling over the Maritime Continent. Part II: New parameterization for autoconversion of convective rainfall. *Journal of Climate*, 27(4), 1504-1523. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-13-00171.1>
- Giorgi, F. (1990). Simulation of Regional Climate Using a Limited Area Model Nested in a General Circulation Model. *Journal of Climate*, 3(9), 941-963. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1990\)003<0941:sorca>2.0.co;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1990)003<0941:sorca>2.0.co;2).
- Giorgi, F., Bates, G. T., & Nieman, S. J. (1993). The multiyear surface climatology of a regional atmospheric model over the western United States. *Journal of Climate*, 6(1), 75-95. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1993\)006<0075:TMSCOA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1993)006<0075:TMSCOA>2.0.CO;2)
- Giorgi, F., & Lionello, P. (2007). Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and Planetary Change*, 63(2-3), 90-104. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2007.09.005>
- Giorgi, F., & Mearns, L. O. (1991). Approaches to the simulation of regional climate change: A review. *Reviews of Geophysics*, 29(2), 191-216. <https://doi.org/10.1029/90RG02636>
- Grell, G. A. (1993). Prognostic evaluation of assumptions used by cumulus parameterizations. *Monthly Weather Review*, 121(3), 764-787. [https://doi.org/10.1175/1520-0493\(1993\)121%3C0764:PEOAU%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0493(1993)121%3C0764:PEOAU%3E2.0.CO;2)
- Karmalkar, A. V., Bradley, R. S., & Diaz, H. F. (2011). Climate change in Central America and Mexico: Regional climate model validation and climate change projections. *Climate Dynamics*, 37(3), 605-629. <https://doi.org/10.1007/s00382-011-1099-9>.
- López Moreno, J. I., & Vicente Serrano, S. M. (2008). Predicciones de cambio climático en La Rioja a partir de modelos regionales: Estimaciones para finales del siglo XXI. *Zubía Monográfico*, 20, 187-200.
- Reboita, M. S., Dias, C. G., Dutra, L. M. M., da Rocha R. P., & Llopart, M. (2018). Previsão climática sazonal para o Brasil obtida através de modelos

- climáticos globais e regional. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 33(2), 207-224. <https://doi.org/10.1590/0102-7786332001>.
- van den Hurk, B. J. J. M., & van Meijgaard, E. (2010). Diagnosing land-atmosphere interaction from a regional climate model simulation over West Africa. *Journal of Hydrometeorology*, 11(2), 467-481. <https://doi.org/10.1175/2009JHM1173.1>
- Vichot-Llano, A., Martínez-Castro, D., Centella-Artola, A., & Bezanilla-Morlot, A. (2014). Sensibilidad al cambio de dominio y resolución de tres configuraciones del modelo climático regional RegCM 4.3 para la región de América Central y el Caribe. *Revista de Climatología*, 14, 45-62.
- Wang, X., Yang, M., & Pang, G. (2015). Influences of two land-surface schemes on regcm4 precipitation simulations over the tibetan plateau. *Advances in Meteorology*. <https://doi.org/10.1155/2015/106891>
- Widmann, M., Bretherton, C. S., & Salathé, E. P. (2003). Statistical precipitation downscaling over the northwestern united states using numerically simulated precipitation as a predictor. *Journal of Climate*, 16(5), 799-816. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(2003\)016<0799:SPDOTN>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(2003)016<0799:SPDOTN>2.0.CO;2)
- Yang, M., Zuo, R., Wang, L., & Chen, X. (2018). Simulation of Land Surface Climate over China with RegCM4.5: Verification and Analysis. *Advances in Meteorology*. <https://doi.org/10.1155/2018/7960908>

Respuesta inmunológica a varias proteínas del *H. pylori* en pacientes guatemaltecos

Immune response to various H. pylori proteins in Guatemalan patients

Glenda B. Tello¹, Vanesa I. Wannan¹, Andrea M. Duarte¹, Walter O. Guerra³, Isabel E. Guerra³,
Ana C. Ortiz⁴, Alfonso Zetina³, Jorge Gómez³, Jorge L. De León², Karla J. Lange¹, Vivian L. Matta¹

¹Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala,

²Unidad de Bioinformática, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, ³Instituto de Cancerología/
Hospital Dr. Bernardo del Valle S y ⁴Clínica Privada

*Autor al que se dirige la correspondencia: vivian.matta@fulbrighmail.org

Recibido: 09 de septiembre 2019 / Revisión: 17 de julio 2020 / Aceptado: 20 de septiembre 2020

Resumen

Se determinó la respuesta inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispepticos (adultos y niños), pacientes con cáncer gástrico y sus familiares asintomáticos adultos viviendo con ellos. Se utilizó la prueba recomLine[®] Helicobacter IgG e IgA, y con base en el reconocimiento de los factores de virulencia VacA y CagA se determinó si la cepa de *H. pylori* era de tipo I o II. El análisis de los datos fue descriptivo y analítico y se estimaron los intervalos de confianza de 95%, con un nivel de error de 0.05 y Odds ratio. El 58.7% (121/206) de los pacientes presentó la bacteria en tinción histológica de biopsia, positividad que disminuyó con la edad y daño histológico. La frecuencia de la respuesta a los anticuerpos IgG fue mayor que IgA, en ambos casos ésta fue menor en los niños. Las proteínas del *H. pylori* más reconocidas tanto por IgA como IgG fueron VacA y CagA, y la respuesta a las otras proteínas investigadas fue mayor al aumentar el daño histológico. La cepa tipo I fue la que predominó en la población en estudio con 66% (136/206). Se deben continuar con los estudios de prevalencia de la cepa tipo I del *H. pylori* y del reconocimiento de sus antígenos en la población guatemalteca a fin de determinar su utilidad en el diagnóstico y pronóstico de la infección.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, proteínas recombinantes, tipo de cepa, anticuerpos IgG e IgA, Cag A, VacA

Abstract

The immune response to recombinant *Helicobacter pylori* proteins was determined in dyspeptic patients (adults and children), patients with gastric cancer and their asymptomatic adults' relatives living with them. The recomLine[®] Helicobacter IgG and IgA test was used and based on the recognition of the virulence factors VacA and CagA, it was determined whether the *H. pylori* strain was type I or II. The data analysis was descriptive and analytic, and 95% confidence intervals were estimated, with an error level of 0.05, and Odds ratio. The patients that presented the bacterium in histological biopsy were 58.7% (121/206), positivity that decreased with age and histological damage. The frequency of response to IgG antibodies was higher than IgA, in both cases it was lower in children. VacA and CagA were the *H. pylori* proteins most recognized by both IgA and IgG and it was observed that the number of recognized proteins was greater with increasing histological damage. The type I strain was the one that predominated in the study population 66% (136/206). Prevalence studies of the type I strain of *H. pylori* and the recognition of its antigens in the Guatemalan population should continue in order to determine its usefulness in the diagnosis and prognosis of infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, recombinants proteins, strain type, IgG and IgA antibodies, Cag A, VacA



Introducción

La infección por *Helicobacter pylori* ha sido documentada en Guatemala desde el 1991, habiéndose reportado su presencia en niños y adultos, así como su asociación con patologías gástricas como dispepsia, gastritis y cáncer gástrico, lo que demuestra su importancia en la región (Cifuentes et al., 2012; Díaz et al., 2017; Dowsett et al., 1999; Jiménez Buckley, 1991; Matta et al., 2017). Hay reportes de la infección por *H. pylori* en niños que aumenta hasta en la etapa adulta y se ha asociado a las condiciones sanitarias, hacinamiento, baja educación, ausencia de drenajes y de agua potable (Fortuny, 2001).

La infección por *H. pylori* representa un riesgo de 5-8 veces mayor para el desarrollo de cáncer gástrico, más para el tipo intestinal que el difuso, habiéndose encontrado que el 80% de los adenocarcinomas tipo intestinal están asociados a la infección (Matta & De León, 2015; Parsonnet et al., 1991; Ramírez Ramos & Sánchez Sánchez, 2008).

Se ha descrito que factores propios del estómago facilitan la colonización de la bacteria entre ellos la acidez y peristalsis, sin embargo, los propios de la bacteria son más importantes entre ellos la presencia de la ureasa, flagelos, citotoxina vacuolizante VacA y toxina CagA. El gen que codifica esta toxina no está presente en todas las cepas, por lo que con base en su presencia se dividen en cepa Cag positivas o cepas tipo I que se asocian a una mayor virulencia e inducen un daño gástrico visible, mientras que el tipo II o Cag negativas se asocian a una menor virulencia y se comportan como bacterias comensales más que patógenas (Censini et al., 1996; Covacci et al., 1999; Cover & Blaser, 2009).

En Guatemala, Hernández reportó que el 100% de las cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con cáncer gástrico presentaban un patrón positivo para la presencia de los genes “*VAC SI/MI*” y “*CAG A*”, los cuales se han reportado en cepas altamente virulentas y asociadas a la producción de un daño más severo (2002).

La serología ha sido utilizada para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, sin embargo, hasta la fecha presenta problemas por baja sensibilidad/especificidad y no diferenciar si la infección es causada por la cepa I o II del *H. pylori*. Actualmente existe la prueba recomLine que en membrana de nitrocelulosa tiene inmovilizadas proteínas recombinantes de los principales factores de virulencia del *H. pylori* entre ellos CagA,

VacA, GroEl, gGT, HcpC y UreA, la que presenta una alta sensibilidad y especificidad (97.6% y 96.2%) y ha demostrado ser una herramienta muy importante en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Groel o Chaperonina es una proteína que pertenece a la familia de las chaperonas, que es necesaria para la adecuada conformación de las diferentes proteínas de la bacteria y está asociada a la adhesión de la bacteria a las células epiteliales gástricas e inducción de la respuesta inflamatoria. La gGT o Gamma-glutamyl transpeptidasa es una proteína endógena que tiene dos subunidades 40kD y 20kD y es un factor de virulencia secretado por la bacteria que juega un papel muy importante en la evasión de la respuesta inmune, colonización de la bacteria y apoptosis celular. Su presencia esta inversamente asociada a la presencia de lesiones gástricas preneoplásicas. La UreA es una subunidad de la ureasa, que juega un papel importante en la colonización del *H. pylori* (Formichella et al., 2013).

El objetivo del presente estudio fue determinar la respuesta inmunológica a las diferentes proteínas recombinantes de *H. pylori* en pacientes dispépticos (adultos y niños), familiares viviendo con los pacientes con cáncer gástrico y pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, para que de acuerdo al reconocimiento a las proteínas con la prueba recomLine determinar si la infección es causada por la cepa tipo I o II de *H. pylori*, establecer las proteínas que son reconocidas por los diferentes grupos así como si existe una asociación con la patología presente, información que será de utilidad para el estudio epidemiológico de la infección.

Materiales y Metodos

Muestra

El grupo de estudio se conformó por (1) 100 pacientes dispépticos entre ellos 60 menores de edad y 40 pacientes mayores de 18 años positivos para *H. pylori* en la biopsia gástrica, (2) 71 pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico y (3) 35 familiares de los pacientes con cáncer gástrico, todos accedieron voluntariamente a participar en el estudio. En el caso de los familiares de los pacientes con cáncer gástrico se invitó al menos un familiar por paciente, mayor de 18, que vivieran con él y que no presentaran sintomatología sugestiva de infección por *H. pylori*, aceptando únicamente 35 personas.

Procedencia de los casos: entre los pacientes con dispepsia había 60 casos menores de edad que

asistieron a una clínica privada de gastroenterología pediátrica para su tratamiento por síntomas de dispepsia y el consentimiento fue firmado por los padres y/o responsables. Los pacientes con dispepsia adultos y los pacientes con cáncer gástrico fueron atendidos por su patología en la Liga Nacional Contra el Cáncer e Instituto de Cancerología y Hospital “Dr. Bernardo del Valle S.” durante el período de un año (mayo 2016 – mayo 2017). A todos los participantes del estudio, previo a la extracción se les dio a conocer el procedimiento, importancia y beneficios de su participación en el estudio a través de un consentimiento informado. El estudio contó con la autorización del Comité de Bioética de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Metodología

Los datos clínicos y epidemiológicos se obtuvieron a través de una encuesta epidemiológica elaborada para el estudio. Se obtuvo una muestra sanguínea por punción venosa utilizando método al vacío con tubos sin aditivos, el suero fue separado por centrifugación y conservado en congelación a -20 °C hasta su análisis.

A cada uno de los pacientes se les determinó los anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori* utilizando la prueba recomLine Helicobacter IgG e IgA de Mikrogen Diagnostik®, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se determinó la respuesta de cada paciente a las diferentes proteínas de *H. pylori* y con base en la respuesta a los antígenos CagA y VacA se caracterizó la cepa como tipo I o II.

A todos los pacientes se les realizó una endoscopia y una biopsia gástrica. Del reporte se recolectó información sobre la presencia del *H. pylori* y la respuesta inflamatoria observada.

Análisis estadístico

Se llevaron a cabo los análisis descriptivos, adicionalmente se estimaron los intervalos de confianza de 95%, con un nivel de significancia de 0.05 para la estimación de diferencias.

Los datos obtenidos de las pruebas se colocaron en tablas 2x2 comparando los resultados obtenidos. Se calculó el Odds Ratio con sus respectivos intervalos de confianza, nivel de error de 0.05 lo que permitió determinar cuántos pacientes que presentan una biopsia positiva para *H. pylori* tienen una infección de tipo I o tipo II.

Resultados

Se evaluaron un total de 206 personas, 171 pacientes y 35 familiares a quienes se les realizó una endoscopia y biopsia gástrica en busca de la presencia del *H. pylori*. De ellos 121 (58.7%) fueron positivos para la presencia de la bacteria en biopsia gástrica. Esta positividad fue mayor en el caso de los niños con dispepsia con 59 casos positivos (98.3%, IC: 64.5, 93.0), y fue disminuyendo con la severidad de la patología, de tal manera que en los pacientes con cáncer gástrico se observó en menor frecuencia la bacteria, únicamente en 10 casos (14.1%, IC: 0.3, 44.5) (Tabla 1).

La respuesta de los anticuerpos IgA fue menor en los niños, únicamente 5 casos positivos (8.33%, IC: 0, 52.5) y los que presentaron la mayor positividad fueron los pacientes con cáncer gástrico con 47 casos positivos (66.2%, IC: 50.1, 79.1). La respuesta observada con los anticuerpos IgG fue mayor en todos los grupos, los niños presentaron la menor positividad con 14 casos (23.3%, IC: 4.7, 50.8) y los pacientes con cáncer gástrico la mayor respuesta con 69 casos (97.2 %, IC: 89.9, 99.6) (Tabla 2).

Con relación al reconocimiento antigénico en los cuatro grupos, se observó que fue aumentando con la edad y la severidad del daño histológico, de tal manera que, únicamente las proteínas VacA y CagA fueron las reconocidas por los niños, mientras que los otros tres grupos reconocieron en mayor frecuencia otras proteínas como GroEL, FliD, δ GT, HtrA y HpaA, sin embargo, es evidente que las proteínas VacA y CagA fueron las más frecuentes. En el caso de los anticuerpos tipo IgG se observó un mayor reconocimiento antigénico en los pacientes con cáncer gástrico, siendo la proteína CagA la mayor reconocida en los cuatro grupos (Tabla 3 y Figura 1).

Con base en el reconocimiento de las proteínas VacA y CagA las cepas de *H. pylori* causantes de la patología fueron categorizadas como tipo I o tipo II, encontrando que el tipo I fue el más frecuente con 136 casos (66.0%), mientras que el tipo II se reportó únicamente en 12 casos (5.8%). El predominio de la cepa tipo I fue indudable en los cuatro grupos de estudio como puede observarse en la Tabla 4 y Figura 2.

El reconocimiento antigénico observado en el grupo de familiares de pacientes con cáncer gástrico fue característico de cada paciente lo que no permitió establecer asociación específica con su respectivo familiar.

Tabla 1

Positividad en la biopsia gástrica a la presencia de *H. pylori* en los cuatro grupos de estudio (N = 206)

	Negativo		Positivo		IC (95%) *	No hay lámina	
	N	%	N	%		N	%
Niños con dispepsia	59	98.3	1	1.7			
Adultos con dispepsia	7	17.5	33	82.5	(64.5, 93.0)		
Familiares de pacientes con cáncer	16	45.7	19	54.3	(28.8, 75.5)		
Paciente con cáncer gástrico	49	69.0	10	14.1	(0.3, 44.5)	12	16.9
Total	73	35.4	121	58.7		12	5.8

Nota. N = Número % = porcentaje * $p > .05$

Tabla 2

Positividad a los anticuerpos IgA e IgG en la prueba *RecomLine* en los grupos de estudio (N = 206)

	Negativo		Dudoso		Positivo		
	N	%	N	%	N	%	IC (95%) *
IgA							
Niños con dispepsia	55	91.7			5	8.33	(0, 52.2)
Adultos con dispepsia	16	40.0			24	60.0	(36.6, 77.9)
Familiares de pacientes con cáncer	12	34.3			23	65.7	(42.7, 83.6)
Pacientes con cáncer gástrico	24	33.8			47	66.2	(50.1, 79.1)
IgG							
Niños con dispepsia	44	73.3	3	3.33	14	23.3	(4.7, 50.8)
Adultos con dispepsia	2	5.0			38	95.0	(82.2, 99.3)
Familiares de pacientes con cáncer	8	22.9			27	77.1	(57.7, 91.4)
Pacientes con cáncer gástrico	2	2.8			69	97.2	(89.9, 99.6)

Nota. N = Número % = porcentaje * $p > .05$

Tabla 3

Reconocimiento antigénico de anticuerpos IgG e IgA a las proteínas de *H. pylori* en los pacientes del estudio (N = 206)

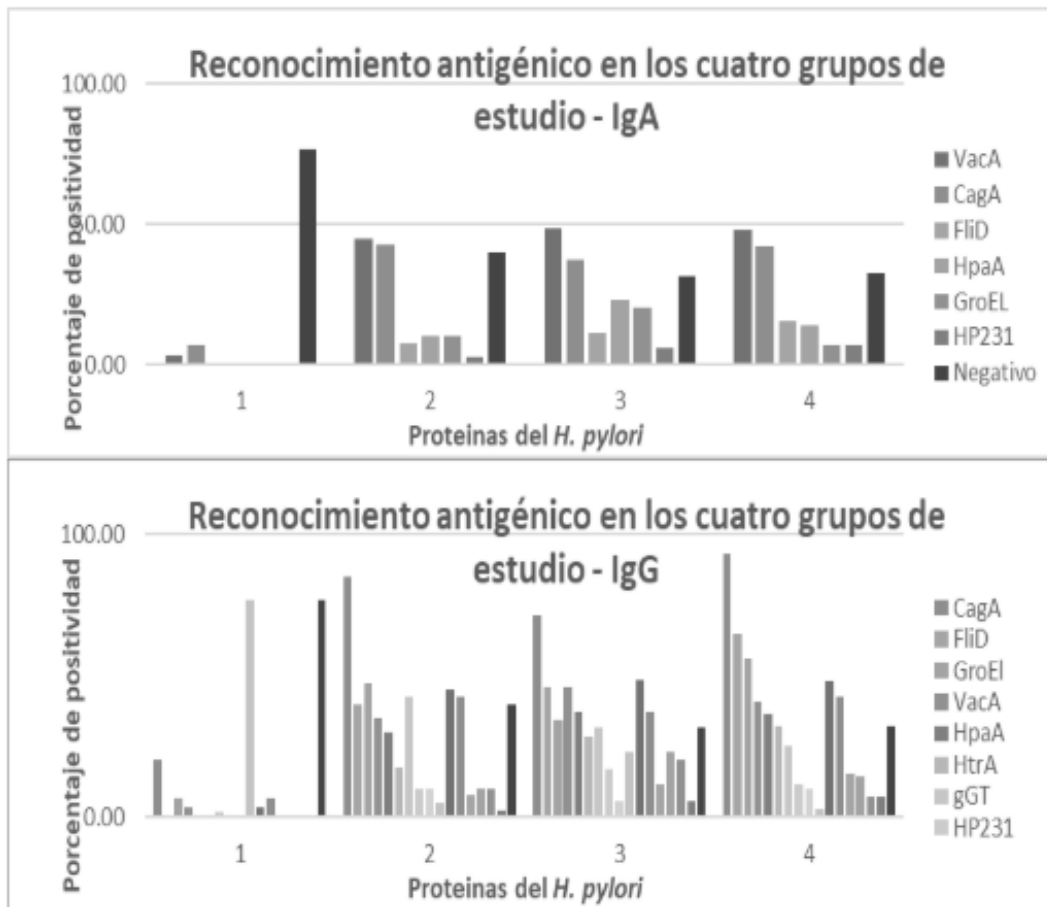
	Niños con dispepsia		Adultos con dispepsia		Familiares de pacientes con cáncer		Paciente con cáncer gástrico	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Acs. IgA								
VacA	2	3.33	18	45.00	17	48.57	34	47.89
CagA	4	6.67	17	42.50	13	37.14	30	42.25
FliD	0	0.00	3	7.50	4	11.43	11	15.49
HpaA	0	0.00	4	10.00	8	22.86	10	14.08
GroEL	0	0.00	4	10.00	7	20.00	5	7.04
HP231	0	0.00	1	2.50	2	5.71	5	7.04
Negativo	46	76.67	16	40.00	11	31.43	23	32.39
Acs. IgG								
CagA	12	20.00	34	85.00	25	71.43	66	92.96
FliD	0	0.00	16	40.00	16	45.71	46	64.79
GroEL	4	6.67	19	47.50	12	34.29	40	56.34
VacA	2	3.33	14	35.00	16	45.71	29	40.85
HpaA	0	0.00	12	30.00	13	37.14	26	36.62
HtrA	0	0.00	7	17.50	10	28.57	23	32.39
δGT	1	1.67	17	42.50	11	31.43	18	25.35
HP231	0	0.00	4	10.00	6	17.14	8	11.27
NapA	0	0.00	4	10.00	2	5.71	7	9.86
Negativo	46	76.67	2	5	8	22.86	2	2.82

Nota. N = Número % = porcentaje

Posteriormente se calculó el riesgo que tiene un paciente con biopsia positiva para *H. pylori* que ésta sea de tipo I, encontrando que es de 0.9 (IC: 0.43 – 1,89), es decir que un paciente con biopsia positiva para *H. pylori* tiene 0.9 veces más probabilidad que esta cepa sea del tipo I y por consiguiente desarrollar carcinoma

gástrico. Es importante resaltar que el amplio rango obtenido indica que puede pasar de ser un factor protector a un agresor. Al calcular el riesgo que tiene un paciente con anticuerpos IgG para que la infección de *H. pylori* sea tipo I es de 1174.33 (IC: 68.66, 20085.00) es cual es muy amplio (Tabla 5).

Figura 1
 Reconocimiento antigénico de anticuerpos IgA e IgG a las diferentes proteínas de *H. pylori* en los cuatro grupos de estudio (N = 206)



Nota. 1 = Niños con dispepsia, 2 = Adultos con dispepsia, 3 = Familiares de pacientes con cáncer y 4 = Pacientes con cáncer gástrico

Tabla 4
 Tipo de cepa de *H. pylori* presente en los grupos de estudio (N = 206)

	Tipo I		Tipo II		Negativo	
	N	%	N	%	N	%
Niños con dispepsia	12	20.0	2	3.3	46	76.7
Adultos con dispepsia	34	85.0	4	10.0	2	5.0
Familiares de pacientes con cáncer	26	74.3	1	2.9	8	22.9
Pacientes con cáncer gástrico	64	90.1	5	7.0	2	2.8
Total	136	66.0	12	5.8	58	28.2

Nota. N = Número % = porcentaje

Figura 2

Tipo de cepa de *H. pylori* presente en los grupos de estudio (N = 206)

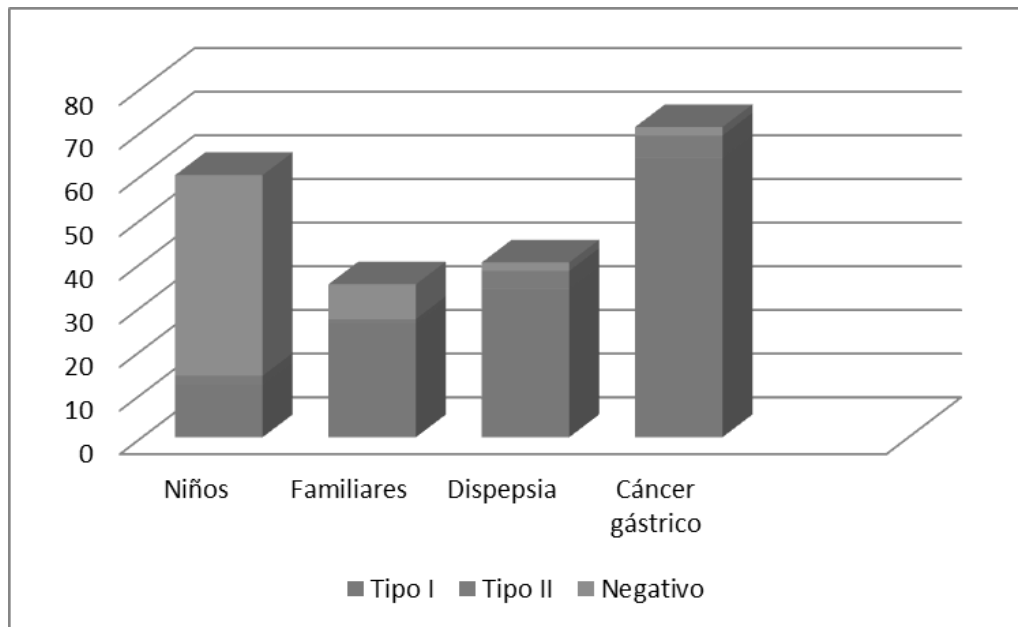


Tabla 5

Cálculo del riesgo que en una biopsia positiva para *H. pylori* la infección sea de tipo I (N = 74)

	Infección de tipo I			OR	IC (95%) *
	Positiva	Negativo	Total		
Biopsia					
Positiva	64	57	121	0.90	(0.43, 1.89)
Negativa	62	18	80		
Total	126	75	201		
Anticuerpos IgG					
Positivo	135	13	148	1174.33	(68.66, 20085.00)
Negativo	0	58	58		
Total	135	71	206		

Nota. * $p > .05$

Discusión

El objetivo del presente estudio fue determinar la respuesta inmunológica a las diferentes proteínas recombinantes estudiadas de *H. pylori* en cuatro grupos de pacientes dispépticos (niños y adultos), familiares adultos viviendo con los pacientes con cáncer gástrico y pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico para así determinar si con base en el reconocimiento de las bandas CagA y VacA, la infección corresponde a una cepa de tipo I o II de *H. pylori*.

Por análisis histológico se encontró un 58.7% de positividad a la infección, dato que concuerda con los estudios realizados en Guatemala que han reportado frecuencias que van del 29.73 al 72.19%, sin embargo, es importante señalar que en este estudio la frecuencia corresponde a una infección activa, ya que se reporta la presencia de la bacteria en tinción de las biopsias gástricas evaluadas. En el caso de la población infantil el criterio de inclusión al estudio fue presentar un resultado positivo a *H. pylori* en la biopsia, lo cual crea un sesgo en los resultados en este grupo en particular al incluir únicamente pacientes positivos (Alonzo et al., 2009; Cifuentes et al., 2012; Dowsett et al., 1999; Lange et al., 2011; Moreira Diaz, 1998; Orozco et al., 2011; World Gastroenterology Organization [WGO], 2010).

Entre los grupos de estudio se observaron grandes diferencias entre la presencia de la bacteria, así el 98.3% de los pacientes dispépticos menores de 18 años fueron positivos para la presencia de *H. pylori* en la biopsia, en contraste con los pacientes con cáncer gástrico en quienes se determinó una frecuencia del 14.1%, datos que contrastan con los resultados obtenidos por Correa y colaboradores (2016), quienes identificaron que el grado de daño a la mucosa gástrica correlaciona directamente con la cantidad de *H. pylori* detectado por métodos histológicos. Sin embargo, otros estudios han demostrado que en los estadios iniciales de la infección por la bacteria se estimula la inmunidad innata a las células T que inducen el desarrollo de las mutaciones genéticas en las células de la mucosa gástrica, en los estadios tardíos como ocurre con los pacientes con cáncer gástrico, presentan un crecimiento anormal en la mucosa gástrica lo que hace un ambiente no adecuado para la presencia de la bacteria por lo que la positividad a la misma disminuye, sin embargo el daño ya ha sido ocasionado y es irreversible. Esta puede ser la explicación de lo observado en este estudio (Chiba et al., 2008).

La severidad de la infección por *H. pylori* depende de la virulencia de la cepa, susceptibilidad del hospedero y factores ambientales. Uno de los métodos de diagnóstico de la infección no invasivo es la determinación de anticuerpos específicos en suero, de tal forma que arriba del 90% de los pacientes infectados tienen niveles detectables de anticuerpos IgG en suero (Schumann et al., 2006; Seo et al., 2016). En este estudio, al analizar los resultados de anticuerpos IgA e IgG anti *H. pylori* en los grupos de este estudio, se encontró que en la población adulta los anticuerpos IgA no presentaron variabilidad entre ellos, mientras que el rango obtenido para los anticuerpos IgG fue de 77.1 a 97.2%, muy similar a lo reportado en otros estudios de prevalencia de la infección en Guatemala, lo cual denota el impacto sobre la salud pública que tiene este agente.

En contraste, la frecuencia de positividad encontrada en los niños con dispepsia fue menor, siendo de 23.3% (14/61) para los anticuerpos IgG y 8.33% (5/61) para IgA, la baja proporción de población positiva en este grupo poblacional, contrasta con los resultados reportados por Matta y colaboradores (2017), quienes determinaron una prevalencia de anticuerpos IgG en 302 niños menores de diez años de 44.70%. Esta diferencia puede deberse entre otros factores al estadio de la infección, que en este caso corresponde a fase aguda, a la condición socioeconómica ya que en este estudio se incluyó a pacientes de una clínica privada mientras que en el otro estudio fueron pacientes de guarderías estatales, o a un compromiso en la inmunidad de los pacientes, como señala Quintana-Guzmán y colaboradores (2002). Además, se ha identificado que los niños pueden tener una respuesta inmune diferente, con menor expresión de anticuerpos que los adultos, y que presentan una mayor cantidad de resultados falsos negativos en la determinación de anticuerpos, lo cual se incrementa en los menores de 5 años (Seo et al., 2016).

En el caso de obtener un reconocimiento antigénico de las proteínas VacA y CagA en la prueba RecomLine, se consideró que la infección era causada por una cepa de *H. pylori* tipo I y si por el contrario este fue negativo correspondía al tipo II. Se identificó que el tipo I fue el más prevalente en los cuatro grupos, lo cual repercute en un mayor riesgo de progresión a cáncer gástrico ante la presencia de las proteínas CagA y VacA del *H. pylori*, ya que la presencia del gen asociado a la vacuolización (*vacA*) y del gen asociado a la citotoxicidad (*cagA*) se correlaciona con cepas que exhiben una mayor actividad citotóxica (Rivas &

Hernandez, 2000). En este estudio, el reconocimiento antigénico a las proteínas CagA y VacA fue frecuente en la población analizada 136/206 (66.0%), tendencia que se mantuvo en todos los grupos evaluados, lo que indicaría que la infección es causada por cepas de *H. pylori* tipo I. Es sabido que la cepa I de este microorganismo ocasiona daño a la mucosa gástrica, ya sea de forma citotóxica o vacuolizante, lo que desencadena una infiltración de leucocitos con la consecuente inflamación de la mucosa, hecho que favorece la división celular para reparar el daño de la mucosa lo que puede llevar al desarrollo del cáncer gástrico, por lo que se considera a la cepa I de *H. pylori* con alto poder carcinogénico.

El factor de virulencia del gen CagA se ha identificado en el 80-100% de las cepas de *H. pylori* aisladas en el este de Asia, en este estudio el antígeno CagA fue el reconocido con mayor frecuencia por anticuerpos IgG en todos los grupos evaluados 137/206 (66.5%). Así mismo, se ha identificado que el número de bandas inmuno reactivas se incrementan significativamente con la edad y con la severidad de la infección, como se observó en este estudio, donde el mayor reconocimiento se obtuvo con los anticuerpos IgG y en los pacientes adultos, especialmente en quienes tenían diagnóstico de cáncer gástrico.

En este estudio se observó un reconocimiento antigénico de otras proteínas del *H. pylori*, entre ellas GroEL, Flid y Hp231, que aumentó con el daño gástrico en la población estudiada. GroEL pertenece a la familia de chaperonas y es necesaria para el adecuado doblaje de las proteínas de la bacteria y para que pueda adherirse a la mucosa gástrica y agregarse, afectando la homeostasis gástrica (Bergonzelli et al., 2005). Ha sido señalada como un predictor para el desarrollo del cáncer (Formichella et al., 2013).

FliD es importante para el ensamblaje del flagelo funcional por lo que interviene en la movilidad de la bacteria, colonización y persistencia de la infección. Ha sido señalado como un marcador de erradicación y la presencia de los anticuerpos se considera como un alto riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Wang et al., 2017).

Otras proteínas de *H. pylori* fueron reconocidas por los anticuerpos IgG de la población estudiada, HP231, NapA, HcpC y Ggt. Epplein y colaboradores reportan que la presencia de las tres primeras está aso-

ciadas a un incremento del 60-80% en el riesgo de padecer cáncer colorrectal (2013). Por otro lado, Ggt se ha descrito como un factor de virulencia importante del *H. pylori* relacionado con la evasión de la respuesta inmune.

Tomando en cuenta la respuesta observada a estas diferentes proteínas en la población en estudio, tanto por anticuerpos IgA como IgG, y que la misma aumentó con el daño gástrico, es evidente que es necesario realizar un seguimiento clínico en la población positiva a fin de establecer los posibles daños que pudieran observarse en la mucosa gástrica y prevenir el desarrollo del cáncer. Esto es importante ya que otros estudios realizados han reportado que el riesgo de producirse daño gástrico fue más pronunciado en los sujetos que fueron positivos a más de tres antígenos (p por tendencia = .0003) y que el estudio de la respuesta inmunológica a estas proteínas puede ser utilizado para identificar a los pacientes que pueden desarrollar cáncer gástrico, especialmente la seropositividad a los marcadores CagA y GroEL (Pan et al., 2014).

Por último, el análisis de riesgo realizado demostró que un paciente con biopsia positiva tiene una probabilidad de .9 de presentar una cepa tipo I y por consiguiente desarrollar cáncer gástrico, aunque es importante señalar que por el intervalo de confianza tan amplio puede pasar de ser un factor protector a un agresor. Este análisis no pudo realizarse basándose en la respuesta obtenida con anticuerpos IgG, ya que el rango obtenido es demasiado amplio.

Se concluye que la población guatemalteca está expuesta a la cepa de *H. pylori* tipo I que es la más patógena y virulenta por lo que puede inducir un mayor daño gástrico, lo que demuestra que los pacientes que presentan la infección deben ser tratados para eliminar la bacteria y evitar que se desarrollen los daños patológicos característicos e irreversibles.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a los pacientes que participaron en este estudio y al departamento de Citohistología por su valiosa colaboración. La realización de este trabajo ha sido posible gracias al apoyo financiero dentro del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FINDECYT/FONACYT), (Proyecto 11-2017).

Referencias

- Alonzo, L., Arroyo, G., Benito, M., Duarte, A., Matta, V., Nave, F., Pernilla, L., Polanco, S., Rodas, G., & Ruiz, R. (2009). Asociación entre la presencia de *Helicobacter pylori* y patología gástricas detectadas por endoscopia. *Revista Científica (Guatemala)*, 5(1), 34-40.
- Bergonzelli, G. E., Granato, D., Pridmore, R. D., Marvin-Guy, L. F., & Donnicola, D. (2005). GroEL of *Lactobacillus johnsonii* La1 (NCC 533) is cell surface associated: Potential role in interactions with the host and the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 74(1), 425-434. <http://doi.org/10.1128/IAI.74.1.425-434.2006>
- Censini, S., Lange, C., Xiang Z., Crabtree, J. E., Ghiara, P., Borodovsky, M., Rappuoli, R., & Covacci, A. (1996). Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-Specific and disease-associated virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(25), 14648-14653. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14648>
- Chiba, T., Marusawa H., Seno, H., & Watanabe, N. (2008). Mechanism for Gastric Cancer Development by *Helicobacter pylori* Infection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 23(8 pt 1), 1175-1181. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2008.05472.x>.
- Cifuentes, G., Silvestre, G., Lange, K., & Matta, V. (2012). Frecuencia de Anticuerpos IgG anti *Helicobacter pylori* en expendedores de alimentos de la ciudad universitaria zona 12. *Revista Científica (Guatemala)*, 22(1), 24-29.
- Correa, S., Cardona, A. F., Correa, T., García, H. I., & Estrada, S. (2016). Prevalencia de *Helicobacter pylori* y características histopatológicas en biopsias gástricas de pacientes con síntomas dispépticos en un centro de referencia de Medellín. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(1), 9-15. <https://doi.org/10.22516/25007440.67>
- Covacci, A., Telford, J., Del Giudice, G., Parsonnet, J., & Rappuoli, R. (1999). *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*, 284(5418), 1328-1333. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1328>
- Cover, T. L., & Blaser, M. (2009). *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*, 136(6), 1863-1873. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.01.073>
- Díaz, Y., de León, J. L., Rivera, L., & Matta, V. (2017). Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población que asistió a las clínicas de Aprofam durante 2006-2011. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(2), 217-226. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i2.235>
- Dowsett, S. A., Archila, L., Segreto, V. A., Gonzalez, C. R., Silva, A., Vastola, K. A., Bartizek, R. D., & Kowolik, M. J. (1999). *Helicobacter pylori* infection in indigenous families of Central America: Serostatus and oral and fingernail carriage. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2456-2460. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.8.2456-2460.1999>
- Epplein, M., Pawlita, M., Michel, A., Peek, R. M., Jr, Cai, Q., & Blot, W. J. (2013). *Helicobacter pylori* protein-specific antibodies and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 22(11), 1964-1974. <https://doi.org/doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-13-0702>
- Formichella, L., Romberg, L., Bolz, C., Vieth, M., Geppert, M., Göttner, G., Nölting, C., Walter, D., Schepp, W., Schneider, A., Ulm, K., Wolf, P., Busch, D., Soutschek, E., & Gerhard, M. (2013). A novel line immunoassay based on recombinant virulence factors enables highly specific and sensitive serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20(11), 1703-1710. <https://doi.org/10.1128/CVI.00433-13>
- Fortuny, C. (2001). *Prevalencia de anticuerpos IgG séricos contra Helicobacter pylori en adultos en la aldea Los Pajales, Acatenango, Departamento de Chimaltenango* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <http://bibliomed.usac.edu.gt/tesis/pre/2001/088.pdf>
- Hernández Hernández, R. D. (2002). *Detección de los genes de virulencia de cepas de Helicobacter pylori en biopsias de pacientes con cáncer gástrico* [Tesis licenciatura no publicada]. Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Jiménez Buckley, E. P. (1991). *Frecuencia de gastritis asociada a Helicobacter pylori en el Hospital General de Enfermedad Común. Instituto Guatemalteco de Seguridad Social: Estudio prospectivo en pacientes Instituto Guatemalteco de Seguridad Social* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_5982.pdf
- Lange, K., Matta, V., Nave, F., Alvarado, V., Camó, V., Donis, E., Dubón, M., García, M., Medina, N., Ramos, R., & Serrano A. (2011). Frecuencia de anticuerpos IgM e IgG anti *Helicobacter pylori* en estudiantes, personal docente y administrativo de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. *Revista Científica (Guatemala)*, 20(1), 96-101.
- Matta, V., & De León, J. (2015). Caracterización del cáncer gástrico en Guatemala. *Revista Científica (Guatemala)*, 25(2), 9-20.
- Matta, V., Lange-Cruz, K., Medina, N., Martínez, E., Hidalgo, E., & Schneider, R (2017). Cambios en la frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* en niños guatemaltecos durante 10 Años. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(1), 7-14. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i1.169>
- Moreira Diaz, J. P. (1998). *Prevalencia de Helicobacter pylori en pacientes con enfermedad péptica en el área rural* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_7860.pdf
- Orozco, M., Posada L., Robles A., De León J., Lange K., & Matta V. (2011). Detección de anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en profesionales de salud. *Revista Científica (Guatemala)*, 21(2), 51-55.
- Pan, K. F., Formichella, L., Zhang, L., Zhang, Y., Ma, J., Li, Z., Liu, C., Wang, Y., Goettner, G., Ulm, K., Classen, M., You, W., & Gerhard, M. (2014). *Helicobacter pylori* antibody responses and evolution of precancerous gastric lesions in a Chinese population. *International Journal of Cancer*, 134(9), 2118-2125. <https://doi.org/10.1002/ijc.28560>
- Parsonnet, J., Friedman, G. D., Vandersteen, V. P., Chang, Y., Vogelstein, J. H., Orentreich, N., & Sibley, R. K. (1991). *Helicobacter pylori* Infection and the Risk of Gastric Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 325(16), 1127-1131. <https://doi.org/10.1056/NEJM199110173251603>.
- Quintana-Guzmán, E. M., Salas-Chaves, P., Achí-Araya, R., Davidovich-Rose, H., & Schosinsky-Neerman, K. (2002). Valor diagnóstico de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en pacientes referidos al servicio de endoscopia digestiva del Hospital San Vicente de Paul. *Revista Biomédica*, 13(1), 15-23.
- Ramírez Ramos, A., & Sánchez Sánchez, R. (2008). *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Revista de Gastroenterología de Perú*, 28(3), 258-266.
- Rivas, F., & Hernandez, F. (2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. *Revista Biomédica*, 11(3), 187-205.
- Schumann, C., Triantafilou, K., Maximilian Rasche, F., Möricke, A., Vogt, K., Triantafilou, M., Hahn, P., Schneider, M., & Lepper, P. (2006). Serum Antibody positivity for distinct *Helicobacter pylori* antigens in benign and malignant Gastrointestinal Disease. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(4-5), 223-228. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.02.009>.
- Seo, J., Lim, C., Park, J., Yeom, J., Lim, J., Jun, J., Woo, H., Youn, H., Baik, S., Lee, W., Cho, M., & Rhee, K. (2016). Correlations between the CagA antigen and serum levels of anti-*Helicobacter pylori* IgG and IgA in children. *Journal of Korean Medical Science*, 31(3), 417-422. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.3.417>.
- Wang, T., Zhang, Y., Su, H., Li, Z., Zhang, L., Ma, J., Liu, W., Zhou, T., You, W., & Pan, K. (2017). *Helicobacter pylori* antibody responses in association with eradication outcome and recurrence: A population-based intervention trial with 7.3-year follow-up in China. *Chinese Journal of Cancer Research*, 29(2), 127-136. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2017.02.05>
- World Gastroenterology Organization. (2010). Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología. <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/helicobacter-pylori-spanish-2010.pdf>

Diseño, estandarización e implementación de una nueva técnica en Guatemala, para el diagnóstico rápido de hemocultivos positivos, utilizando la tecnología Maldi-tof

Design, standardization and implementation of a new technique in Guatemala, for the rapid diagnosis of positive blood cultures, using Maldi-tof technology

Juan C. Barrera-Toledo^{1,2}, Sergio Melgar², Edith Oregón³

¹Áreas de Bacteriología y Tuberculosis y Hongos, Laboratorio Clínico, Hospital General San Juan de Dios,

²Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala,

³Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, México

*Autor al que se dirige la correspondencia: juanc_7barrera@hotmail.com

Recibido: 21 de abril 2020 / Revisión: 08 de julio 2020 / Aceptado: 13 de noviembre 2020

Resumen

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud que a pesar de los avances médicos siguen cobrando vidas en todo el mundo; como las septicemias. La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo inexistente en Guatemala, para el diagnóstico rutinario de hemocultivos positivos dentro de las instalaciones del Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios, lugar en donde se encuentra el único espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight-mass spectrometry*). Se utilizaron 240 muestras de pacientes de los diferentes servicios. El diagnóstico se realizó comparando las identificaciones obtenidas a partir de cultivos microbiológicos puros con muestras directas de botellas con caldo BHI (*Brain Heart Infusion*). Los resultados de las dos metodologías fueron evaluados con el diseño estadístico “apareado o emparejado en grupo”. La comparación no evidenció discordancia en las identificaciones; pero sí en los tiempos de respuesta. La reducción de tiempo fue de 42.9 h para bacterias Gram positivo, 45.0 h para bacterias Gram negativo y 126.2 h para levaduras, todos a favor de identificaciones a partir de muestras directas. Con esta investigación se pretende ofrecer una nueva alternativa que permitirá brindar un diagnóstico rápido, confiable y certero a la población guatemalteca. También permitirá reducir la morbilidad de los pacientes con septicemias, promover el ahorro de insumos hospitalarios, disminuir el tiempo de estancia hospitalaria, ahorrar el consumo de antibióticos innecesarios y contribuir indirectamente a combatir la resistencia antimicrobiana; un problema actual de gran importancia a nivel mundial.

Palabras claves: Microbiología, septicemia, espectrometría de masas

Abstract

Infectious diseases are a health problem that despite medical advances in terms of diagnosis continue to take lives worldwide, such is the case of sepsis. The purpose of this research was to design, standardize and implement a non-existent protocol in Guatemala, for the routine diagnosis of positive blood cultures, within the facilities of the clinical laboratory of the San Juan de Dios General Hospital; where the only Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight-mass spectrometry*) type mass spectrometer is located. For this, 240 samples of positive blood cultures were used, coming from patients of the different services. The microbiological diagnosis was made by comparing the identification data obtained from pure microbiological cultures and direct samples of BHI broth (*Brain Heart Infusion*) bottles. The results of the two methodologies were evaluated based on “paired or matched in groups” statistical design. The Maldi-tof technique did not show disagreement regarding identification between the two types of samples; but it did in the response time. The time reduction was 42.9 h for Gram positive bacteria, 45.0 h for Gram negative and 126.2 h for yeasts, supporting identification from direct samples. This research aims to provide a new diagnostic alternative that will allow access to fast, reliable, and accurate results for the Guatemalan population. It will also help to reduce morbidity and mortality rates of patients with sepsis, to promote hospital supplies savings, decrease the patient length of stay, save unnecessary antibiotics and indirectly contribute to combating antimicrobial resistance; a critical problem faced by the world today.

Keywords: Microbiology, septicemia, mass spectrometry



Introducción

Se definen como septicemia a la enfermedad infecciosa generalizada debida a la existencia de un foco infeccioso en el interior del cuerpo, encontrándose microorganismos en el torrente sanguíneo. Como consecuencia, se presenta una gran cantidad de síntomas que, en caso de un incorrecto o tardío abordaje antibiótico, provocan la muerte del paciente (Cattani et al., 2015).

El diagnóstico microbiológico de septicemias se realiza mediante el análisis de hemocultivos (Gherardi et al., 2012), los cuales actualmente requieren un promedio de cinco a siete días para brindar un diagnóstico certero. Dicho lapso es tardío en la mayoría de las ocasiones, y retrasa la toma de decisiones poniendo en riesgo la vida de los pacientes. Por esta razón, es imperativo mejorar los protocolos de diagnóstico utilizados actualmente (Ferreira et al., 2010).

La identificación de microorganismos en el Laboratorio Clínico, se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante pruebas fenotípicas; como la caracterización macroscópica de las colonias, tinciones y pruebas bioquímicas (Ferreira et al., 2011). La automatización de algunas de estas pruebas ha constituido un avance importante, pero continúa siendo insuficiente, debido al tiempo de respuesta (Angeletti, 2017).

El desarrollo de espectrometría de masas de tipo Maldi-tof permite la identificación de microorganismos a partir de cultivos puros mediante el análisis de proteínas ribosómicas, las cuales generan un espectro de masas específico para cada microorganismo en un corto tiempo (uno a dos minutos aproximadamente) (Lewis et al., 2006).

El sistema Maldi-tof, separa y detecta iones en fase gaseosa. Los elementos principales que forman su sistema son: una fuente de ionización, un analizador de masas y un detector (García et al., 2012).

El resultado de aplicar una fuente de ionización sobre una molécula es la formación de iones generados por exceso o pérdida de electrones. La muestra es embebida en una matriz orgánica, la cual cristaliza en contacto con el aire (Aebersold & Mann, 2003). Esta mezcla se deposita en una tarjeta de material conductor y es irradiada por un láser. La energía del láser causa una desestructuración de la matriz cristalizada, generando una nube de partículas. Los iones de dicha nube se extraen al ser sometidos a un campo eléctrico, a través del cual son acelerados debido a su carga. Los iones obtenidos son dirigidos hacia el analizador de

masas y posteriormente al detector (Cherkaoui et al., 2010). El papel de la matriz es fundamental para los procesos electroquímicos que se producen. Generalmente se utilizan sustancias orgánicas que absorben la energía del láser como, por ejemplo, ácidos α -ciano-4-hidroxi-trans cinámico (TFA), 2,5-dihidrobenczoico, sinapínico y fórmico (Claydon et al., 1996).

Un estudio elaborado por Hoyos-Mallecot y colaboradores (2013), evidenciaron que utilizando las muestras de hemocultivos positivos de forma directa se redujo considerablemente el tiempo de respuesta diagnóstica. Los resultados obtenidos evidencian que el 77.5% de identificaciones para especies y 93.8% para subespecies fueron realizados de forma exitosa; razón por la cual concluyen que el buen funcionamiento, la rapidez y el bajo costo hacen que esta técnica sea apropiada y fácil de implantar en los Laboratorios de Microbiología Clínica.

En Guatemala, solamente existe un espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof y está ubicado en el Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD). Por lo que siendo éste un hospital de referencia nacional, es necesario utilizar los recursos de forma óptima y brindar diagnósticos rápidos, confiables y certeros a la población guatemalteca.

La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo inexistente en Guatemala, utilizando muestras directas de hemocultivos positivos provenientes de los pacientes que se encontraban en los diferentes servicios del HGSJDD, a quienes les fue solicitado, por el personal médico, un análisis de hemocultivo.

Materiales y Metodos

Recolección y procesamiento de muestras

Se utilizaron 240 muestras de hemocultivos positivos provenientes de pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio Clínico por el personal médico con solicitud de análisis microbiológico de hemocultivos. Fueron seleccionadas aquellas muestras que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos (identificación, solicitud de Laboratorio, medio y volumen de muestra adecuado).

Las botellas para la recolección de muestras contienen caldo BHI enriquecido, que promueve el crecimiento de cualquier microorganismo presente en la muestra y perlas de resina que evitan la formación de

acúmulos bacterianos (Fernández Olmos et al., 2013). Las presentaciones pediátricas requerían 5 mL de sangre y las de adultos 10 mL (la relación medio de cultivo y muestra, son de gran importancia para obtener un correcto diagnóstico por lo que fueron respetadas). Las muestras fueron analizadas por dos metodologías: Identificación microbiológica utilizando, Maldi-tof a partir de cultivos puros (Drevinek et al., 2012; Dupont et al., 2010; Galán et al., 2015) y Maldi-tof utilizando muestras directas (nueva metodología diseñada). Ambas metodologías se compararon y se correlacionaron los resultados de identificación y tiempo de respuesta en cada método.

Identificación microbiológica por método Maldi-tof a partir de cultivos puros

Cada lámina cuenta con tres segmentos de 16 posiciones cada uno; haciendo un total de 48 posiciones para análisis de muestras y tres posiciones adicionales para la respectiva calibración, para lo cual se utilizaron cepas de *Escherichia coli* ATCC 1884. Las colonias fueron colocadas utilizando asas calibradas especiales y fijadas con 1 μ L de matriz orgánica (constituida por acetoneitrilo, TFA y ácido fórmico al 15%). Las láminas fueron secadas al aire e introducidas en el equipo Maldi-tof el cual lee inmediatamente las muestras proporcionando un marco de lectura que fue interpretado de forma automática en un periodo de uno a dos minutos por muestra aproximadamente (Clark et al., 2013).

Identificación microbiológica por método Maldi-tof a partir de muestras directas

Para el procesamiento de las muestras, se realizó una extracción proteica, utilizando el procedimiento establecido por Hoyos-Mallecot y colaboradores (2013). El procedimiento aquí descrito fue modificado de la siguiente manera: Materiales, se utilizaron tubos cónicos, para facilitar la decantación de la muestra, en vez de los tubos de ensayo ordinarios. Procedimiento, en el paso 2, se agregaron 500 μ L de dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% en lugar de 200 μ L de SDS al 5%, debido a que no se obtenía una cantidad suficiente de extracto proteico. El paso 3, se realizó tres veces ya que fue necesario lavar y centrifugar dos veces más por el cambio de volúmenes y concentración del SDS. En el paso 7, se re suspendió el extracto proteico en 500 μ L de agua miliQ en lugar de 1 mL, ya que la cantidad

de agua era suficiente y no afectaba la integridad de la muestra. Se colocaron 2 μ L de extracto proteico en cada una de las posiciones de la lámina y se fijaron con 1 μ L de matriz orgánica. Posteriormente, la muestra fue secada al aire y leída con el espectrómetro de masas (Maldi-tof).

Análisis estadístico

Considerando los antecedentes de los tiempos diagnósticos y que se necesitaba por lo menos 24 h de diferencia entre metodologías, el cálculo de muestra se estableció para un diseño apareado o emparejado de un grupo, evaluándose los tiempos por medio de una prueba de hipótesis unilateral (Nave, 2018). El cálculo se realizó utilizando el programa Granmo 7.12, cuya salida indica literalmente:

“Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.05 en un contraste unilateral, se precisan por lo menos 58 sujetos para detectar una diferencia igual o superior a las 24 unidades. Se asume una desviación estándar de 55.44”.

Para la correlación metodológica se realizó una prueba de hipótesis unilateral (t de Student) para la media aritmética de las diferencias de tiempo entre los métodos, esto permitió evaluar, si la diferencia obtenida era estadísticamente significativa (> 24 h). Si, la identificación microbiológica hubiese tenido alguna variación entre los métodos, se debía realizar un análisis de concordancia por medio del índice Kappa; lo cual no fue necesario, debido a que no se encontraron diferencias.

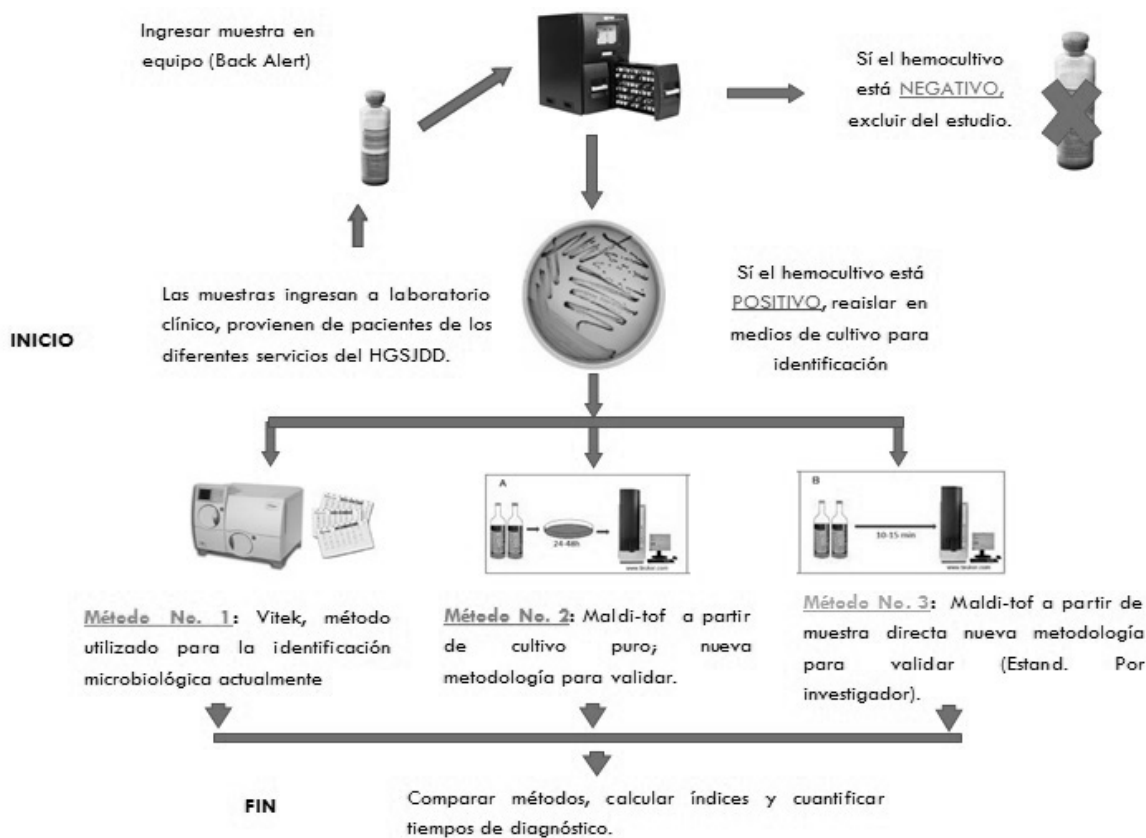
Resultados

Frecuencias y porcentaje de agentes etiológicos de septicemias

Las muestras fueron identificadas con la tecnología Maldi-tof. Se utilizaron muestras de cultivos microbiológicos puros y muestras directas a partir de botellas con caldo BHI. Los resultados en cuanto a identificación se refieren, no evidenciaron diferencia, por el contrario, si se encontraron diferencias en los tiempos de respuesta diagnóstica (Figura 1).

El total de muestras procesadas fueron 240, de las cuales 156 eran de bacterias Gram positivo siendo *Staphylococcus epidermidis* (47.1%) el mayormente aislado en hemocultivos de vía central, ya que en el caso de los hemocultivos periféricos no es considerado

Figura 1
Flujograma de trabajo para diagnóstico de hemocultivos utilizando Maldi-tof



como agente etiológico de septicemias. De igual forma *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium striatum* y *Aerococcus viridans* fueron los encontrados en menor porcentaje (0.6%)

En cuanto a las bacterias Gram negativo se observó que *Acinetobacter baumannii* fue el identificado en mayor porcentaje (21.3%), así como *Bacillus cereus* y *Pseudomonas stutzeri* en el menor (1.3%).

Finalmente, de los microorganismos levaduriformes se observaron únicamente cinco casos, de los cuales el 80% eran causados por *Candida tropicalis* y el 20% por *Candida albicans*.

Reducción de tiempo en la identificación microbiológica de hemocultivos positivos

En la identificación de microorganismos Gram positivo se observó una reducción de tiempo promedio de 42.9 h al comprar el método Maldi-tof cultivo

(MT-C) con respecto al método Maldi-tof muestra directa (MT-MD).

En cuanto a la identificación de microorganismos Gram negativo se pudo observar una reducción de tiempo promedio de 45.0 h al comprar el MT-C con respecto al método MT-MD.

La identificación de levaduras evidenció una reducción de tiempo promedio de 126.2 h al comprar el método MT-C con respecto al método MT-MD.

Discusión

La presente investigación tuvo por objetivo diseñar, estandarizar e implementar un protocolo, para el diagnóstico rutinario de hemocultivos positivos, dentro de las instalaciones del Laboratorio Clínico del HGSJDD; lugar en donde se encuentra el único espectrómetro de masas de tipo Maldi-tof (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of flight-mass spectrometry*).

try) en Guatemala. Dicha metodología permitió obtener resultados confiables, rápidos y certeros en cuanto a identificaciones microbiológicas se refiere, así también permitió reducir el tiempo de respuesta diagnóstica, lo cual promoverá brindar un pronto y correcto abordaje antibiótico a los pacientes con septicemia (Emonet et al., 2010).

Fueron analizadas 240 muestras, de las cuales 156 fueron identificadas con bacterias Gram positivo, 79 como bacterias Gram negativo y cinco como levaduras.

El hemocultivo o cultivo de sangre, es una prueba de Laboratorio que se realiza para identificar la presencia de microorganismos en el torrente sanguíneo principalmente bacterias y hongos (Holland et al., 1996). Se realiza ante la sospecha de un proceso infeccioso en curso o la necesidad de identificar el microorganismo que causa dicha infección, con el objetivo de instaurar el tratamiento farmacológico más efectivo (Kohlmann et al., 2015).

Tomando en cuenta las ventajas y respetando el principio de la tecnología Maldi-tof, se analizaron cultivos microbiológicos puros y la variante con muestras directas; este último con el objetivo de acortar aún más el tiempo necesario para el diagnóstico de septicemias. Las frecuencias evidencian que el 65% de las septicemias fueron causadas por bacterias Gram positivo (Tabla 1); siendo el género *S. epidermidis* la más frecuente y *A. viridans*, *C. striatum* y *S. pneumoniae* en menor frecuencia. *Corynebacterium striatum* es considerado como agente contaminante en mucha literatura (Zabbe et al., 2015).

Las septicemias causadas por bacterias Gram positivo cobran gran importancia, debido a que son los microorganismos identificados con mayor frecuencia, siendo los principales representantes: *Staphylococcus aureus* MRSA y *S. pyogenes* (Moura et al., 2008). Estas bacterias poseen en su estructura peptidoglicano (PNG) y ácido teicoico (LTA), dos moléculas que son reconocidas como patrones moleculares asociados a

Tabla 1

Frecuencia y porcentajes de bacterias Gram positivo identificadas como agente causal de septicemias en pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD (n = 156)

ID. Microbiológica	F	% GP	% FT
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0.6	0.4
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	0.6	0.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	16.8	10.8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	73	47.1	30.4
<i>Staphylococcus hominis</i>	32	20.6	13.3
<i>Staphylococcus capitis</i>	6	3.9	2.5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7	4.5	2.9
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	1.9	1.3
<i>Streptococcus mitis</i>	2	1.3	0.8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0.6	0.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	2.6	1.7
Total	156	100.0	65.0

Nota. F: Frecuencia / % GP: Porcentaje de Gram positivo / % GN: Porcentaje de Gram negativo / % LEV: Porcentaje de levaduras / % FT: Porcentaje de frecuencia total

patógenos (PAMPs) (Sierra et al., 2019), que activan directa y ampliamente el sistema inmune adaptativo promoviendo la liberación de altas cantidades de TNF α , la IL-1 β , la IL-6, el INF γ , IL-8, IL-18, IL-2, IL-12, IL-10, responsables de daños multiorgánicos y principalmente afecciones cardíacas (Luethy & Johnson, 2018).

La frecuencia de septicemias causadas por bacterias Gram negativo se evidencia en la Tabla 2. En estos casos se desencadena una respuesta anómala por parte del huésped a causa de la presencia de lipopolisacáridos (LPS) (Sierra et al., 2019), el principal factor de virulencia reconocido por el complejo proteico NF κ B, que promueven la producción y liberación de citocinas proinflamatorias responsables en su mayoría del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) (Zárate et al., 2014).

El 2.1% de los casos de septicemias fueron provocadas por levaduras del género *Candida* sp.; siendo *C. tropicalis* la causante del 80% de los mismos. Según datos del Centro de Control de Enfermedades Infecciosas (CCEI), estos patógenos han llegado a ocupar el cuarto lugar dentro de las infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, probablemente por la presión de selección a algunos agentes antifúngicos (Contreras et al., 2020). Algunas de estas levaduras presentan resis-

tencia intrínseca (insensibilidad), o desarrollan resistencia secundaria (luego de haber estado en contacto con él); por esta razón se hace necesaria su adecuada identificación a nivel de especie (Singhal et al., 2015).

Kumate y colaboradores (2016), hacen hincapié en la importancia de la correcta y rápida identificación microbiológica, debido a que la terapia antibiótica recomendada en el caso de las septicemias es la línea más alta disponible. Esto quiere decir que, en el caso de las bacterias Gram negativo, se deben administrar carbapenémicos o piperacilina/tazobactam y en el caso de las bacterias Gram positivo vancomicina o Linezolid; para posteriormente realizar un desescalamiento antibiótico y redirección de la terapia con base a los antibiogramas brindados. Esta conducta es recomendada con el objetivo de evitar fallo terapéutico, progresión de la infección y daño multiorgánico.

Del mismo modo, con el objetivo de reducir aún más el tiempo de respuesta diagnóstico se promovió el diseño, desarrollo, ejecución e implementación de una nueva metodología que permitió realizar la identificación microbiológica de hemocultivos positivos, a partir de muestras directas.

Las Tablas 3, 4 y 5 muestran las diferencias en el tiempo de respuesta diagnóstica para cada grupo de microorganismos. Los datos allí descritos, son

Tabla 2

Frecuencia y porcentajes de bacterias Gram negativo identificadas como agente causal de septicemias en pacientes de los diferentes servicios del HGSJDD (n = 79)

ID. Microbiológica	F	% GN	% FT
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17	21.3	7.1
<i>Bacillus cereus</i>	6	7.5	2.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	10	12.5	4.2
<i>Escherichia coli</i>	14	17.5	5.8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	17.5	5.8
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	1.3	0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	18.8	6.3
<i>Salmonella group</i>	2	2.5	0.8
Total	79	100.0	32.9

Nota. F: Frecuencia / % GP: Porcentaje de Gram positivo / % GN: Porcentaje de Gram negativo / % LEV: Porcentaje de levaduras / % FT: Porcentaje de frecuencia total.

Tabla 3

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de bacterias Gram positivo (n = 156)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Aerococcus viridans</i>	54.0
<i>Corynebacterium striatum</i>	22.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	48.7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	47.3
<i>Staphylococcus hominis</i>	47.8
<i>Staphylococcus capitis</i>	48.7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	48.1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	48.5
<i>Streptococcus mitis</i>	35.9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	22.0
<i>Enterococcus faecalis</i>	49.2
Promedio de tiempo	42.9

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa

Tabla 4

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de bacterias Gram negativo (n = 79)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	48.2
<i>Bacillus cereus</i>	50.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	47.5
<i>Escherichia coli</i>	45.7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	47.5
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	33.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46.9
<i>Salmonella group</i>	40.9
Promedio de tiempo	45.0

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa

Tabla 5

Reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos de levaduras ($n = 5$)

ID. Microbiológica	t (MT-C vs MT-MD)
<i>Candida tropicalis</i>	131.3
<i>Candida albicans</i>	121.2
Promedio de tiempo	126.2

Nota. t: tiempo en h / MT-C: Maldi-tof cultivo / MT-MD: Maldi-tof muestra directa.

semejantes a los resultados reportados por Angeletti y colaboradores (2015), quienes realizaron un estudio similar comparando tiempos de respuesta, antes y después de la introducción de la tecnología Maldi-tof. Los datos obtenidos fueron una reducción de 71.73 h en la identificación para bacterias Gram positivo y 64.03 en la identificación de bacterias Gram negativo; no se comparó el tiempo de respuesta en levaduras, pero sí se calculó para microorganismos anaerobios, en los cuales se observó una reducción de 47.62 h.

En cuanto a las ventajas de utilizar la tecnología Maldi-tof pueden mencionarse: menor tiempo de respuesta diagnóstica, abordaje antibiótico certero en un menor tiempo, evitar daño multiorgánico en los pacientes por uso excesivo e inadecuado de antibióticos innecesarios, ahorro de insumos hospitalarios, menor tiempo de estancia hospitalaria, disminución de costos en terapia antibiótica, combatir indirectamente la resistencia antimicrobiana (De la Pedrosa et al., 2016).

Las principales limitaciones del estudio fueron: la poca información con respecto al tema específicamente en el campo de la microbiología médica y en cuanto a la nueva metodología diseñada, la misma no es útil para septicemias mixtas las cuales se presentan en aproximadamente el 3.5% de los casos (Kumate et al., 2016); esto debido a que es necesario contar con las bacterias de forma individual para ser identificadas (Oviaño García et al., 2019).

Con la presente investigación se pretende brindar a la población guatemalteca una alternativa eficiente que promueva la emisión de resultados rápidos, confiables y certeros para el diagnóstico de septicemias, que generalmente ocupan siete días para su diagnóstico.

Agradecimientos

Al Comité de Investigación del Hospital General San Juan de Dios por permitirnos realizar el presente estudio dentro de sus instalaciones.

References

- Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, 422(6928), 198-207. <https://doi.org/10.1038/nature01511>
- Angeletti, S., Dicuonzo, G., D'Agostino, A., Avola, A., Crea, F., Palazzo, C., Dedej, E., & Florio, L. (2015). Turnaround time of positive blood cultures after the introduction of matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry. *New Microbiological*, 38(3), 379-386.
- Angeletti, S. (2017). Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (Maldi-tof MS) in clinical microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 138, 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.09.003>
- Cattani, M. E., Posse, T., Hermes, R. L., & Kaufman, S. C. (2015). Identificación rápida de microorganismos de frascos de hemocultivos por espectrometría de masas. Comparación de dos procedimientos diagnósticos. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.001>

- Cherkaoui, A., Hibbs, J., Emonet, S., Tangomo, M., Girard, M., Francois, P., & Schrenzel, J. (2010). Comparison of two matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*, 1169-1175. <https://doi.org/10.1128/jcm.01881-09>
- Clark, A. E., Kaleta, E. J., Arora, A., & Wolk, D. M. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: A fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(3), 547-603. <https://doi.org/10.1128/cmr.00072-12>
- Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., & Gordon, D. B. (1996). The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nature Biotechnology*, *14*(11), 1584-1586. <https://doi.org/10.1038/nbt1196-1584>
- Contreras, S., Rodríguez, D., Vera, F., Balcalls, M., Celis, L., Legarraga, P., Roman, J., & García, P. (2020). Identificación de especies de micobacterias mediante espectrometría de masas Maldi-tof. *Revista Chilena de Infectología*, *37*(3), 252-256. <http://doi.org/10.4067/s0716-10182020000300252>
- De la Pedrosa, E. G. G., Gimeno, C., Soriano, A., & Cantón, R. (2016). Estudios de coste-efectividad con Maldi-tof e impacto clínico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *34*, 47-52. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(16\)30191-4](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(16)30191-4)
- Drevinek, M., Dresler, J., Klimentova, J., Pisa, L., & Hubalek, M. (2012). Evaluation of sample preparation methods for Maldi-tof MS identification of highly dangerous bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, *55*(1), 40-46. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2012.03255.x>
- Dupont, C., Sivadon-Tardy, V., Bille, E., Dauphin, B., Beretti, J. L., Alvarez, A. S., Degand, N., Ferroni, A., Rottman, M., Herrmann, J. L., Nassif, X., Ronco, E., & Carbonnelle, E. (2010). Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(7), 998-1004. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03036.x>
- Emonet, S., Shah, H. N., Cherkaoui, A., & Schrenzel, J. (2010). Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(11), 1604-1613. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03368.x>
- Fernández Olmos, A., Bou Olmos, G., Cercenado E., Cantón, R., García de La Fuente, C., Saéz Nieto, J. A., Valdezate Ramos, S. (2013). Métodos de identificación bacteriana en el Laboratorio de microbiología. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., Gonzalez-Avila, M., Cembrero-Fucinos, D., Herrero-Hernandez, A., Gonzalez-Buitrago, J. M., & Muñoz-Bellido, J. L. (2010). Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(6), 2110-2115. <https://doi.org/10.1128/jcm.02215-09>
- Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., Porrás-Guerra, I., García-García, M. I., García-Sánchez, J. E., González-Buitrago, J. M., & Muñoz-Bellido, J. L. (2011). Microorganisms direct identification from blood culture by Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, *17*(4), 546-551. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03257.x>
- Galán, F., García-Agudo, L., Guerrero, I., Marín, P., García-Tapia, A., García-Martos, P., & Rodríguez-Iglesias, M. (2015). Evaluación de la espectrometría de masas en la identificación de levaduras de interés clínico. *Clinical Microbiology and Infection*, *33*(6), 372-378. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.003>

- García, P., Allende, F., Legarraga, P., Huilcaman, M., & Solari, S. (2012). Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. *Revista Chilena de Infectología*, 29(3), 263-272. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182012000300003>
- Gherardi, G., Angeletti, S., Panitti, M., Pompilio, A., Di Bonaventura, G., Crea, F., Avola, A., Fico, L., Palazzo, C., Sapia, G., Visaggio, D., & Dicuonzo, G. (2012). Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 72(1), 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.09.015>
- Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J., & Lay, Jr, J. O. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 10(10), 1227-1232. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0231\(19960731\)10:10<1227::aid-rcm659>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0231(19960731)10:10<1227::aid-rcm659>3.0.co;2-6)
- Hoyos-Mallecot, Y., Miranda-Casas, C., Cabrera-Alvargonzalez, J. J., Gómez-Camarasa, C., Pérez-Ramírez, M. D., & Navarro-Marí, J. M. (2013). Identificación bacteriana directamente del hemocultivo mediante una técnica rápida de espectrometría de masas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(3), 152-155. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.09.003>
- Kohlmann, R., Hoffmann, A., Geis, G., & Gatermann, S. (2015). Maldi-tof mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures. *International Journal of Medical Microbiology*, 305(4), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2015.04.004>
- Kumate, J., Gutiérrez, G., Muñoz, O., Santos, I., Solórzano, F., & Miranda, G. (2016). *Infectología clínica*. Méndez Editores
- Lewis, J. K., Wei, J., & Siuzdak, G. (2006). Matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry in peptide and protein analysis. *Encyclopedia of analytical chemistry*, (pp. 5880-5894). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a1621>
- Luethy, P. M., & Johnson, J. K. (2018). The Use of Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Pathogens Causing Sepsis. *Journal of Applied Laboratory Medicine*, 3(4), 675-685. <https://doi.org/10.1373/jalm.2018.027318>
- Moura, H., Woolfitt, A. R., Carvalho, M. G., Pavlopoulos, A., Teixeira, L. M., Satten, G. A., & Barr, J. R. (2008). Maldi-tof mass spectrometry as a tool for differentiation of invasive and noninvasive streptococcus pyogenes isolates. *Immunology & Medical Microbiology*, 53(3), 333-342. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2008.00428.x>
- Nave, F. (2018). *Estadística para la investigación*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Unidad de Publicaciones y Divulgación.
- Oviaño García, M., Rodríguez Sánchez, B., Caballero Pérez, J. de D., Muñoz Bellido, J. L. (2019). Aplicaciones de la espectrometría de masas Maldi-tof en Microbiología Clínica. En E. Cercenado Mansilla & R. Cantón Moreno (Eds.), *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Servicio de Microbiología.
- Sierra, E., Maldonado, N., Arroyo, B., Robledo, C., & Robledo, J. (2019). Identificación directa de microorganismos a partir de muestras de orina y hemocultivos utilizando Maldi-tof. *Infectio*, 23(4), 364-370. <http://doi.org/10.22354/in.v23i4.812>
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P. K., & Viridi, J. S. (2015). Maldi-tof mass spectrometry: An emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 6(791). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>

Zabbe, J. B., Zanardo, L., Mégraud, F., & Bessède, E. (2015). Maldi-tof mass spectrometry for early identification of bacteria grown in blood culture bottles. *Journal of Microbiological Methods*, *115*, 42-46. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.04.009>

Zárate, M. S., Romano, V., Nievas, J., & Smayevsky, J. (2014). Utilidad de la espectrometría de masas Maldi-tof en la identificación microbiana anaeróbica. *Revista Argentina de Microbiología*, *46*(2), 98-102. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70055-0](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70055-0)

Susceptibilidad genética y enfermedad autoinmune reumática: Revisión narrativa

Genetic susceptibility and autoimmune rheumatic disease: Narrative review

Maynor Herrera-Méndez*^{1,2}

¹Unidad de Reumatología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Roosevelt,
²Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos
de Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: drherreram@gmail.com

Recibido: 04 de mayo 2020 / Revisión: 10 de junio 2020 / Aceptado: 30 de octubre 2020

Resumen

La autoinmunidad es la consecuencia de la pérdida de control y regulación de la respuesta inmune. Se reporta que ocurre entre 5 y 9% de patologías a nivel mundial. A las enfermedades con esta anomalía se les denomina autoinmunes y se clasifican de acuerdo con el órgano o sistema afectado. Las reumáticas involucran al tejido conectivo y las articulaciones. Los factores asociados a su aparición incluyen: edad, género, medioambiente y genéticos. La susceptibilidad genética indica la presencia de uno o varios genes asociados al desarrollo de determinada enfermedad, cuya expresión podría ser el producto de la migración, selección, recombinación y adaptación de genes entre las poblaciones, lo que explica la variación fenotípica y la expresión clínica resultante. Los estudios de asociación del genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés) han permitido identificar múltiples genes involucrados con enfermedades reumáticas, destacan el lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide, asociadas con más de 60 alelos, y otras como la espondilitis anquilosante, en donde la asociación ha sido primordialmente con un gen y sus polimorfismos. Esta revisión tiene como objetivo informar el estado de la susceptibilidad determinada genéticamente para estas enfermedades y el impacto que tiene sobre la expresión clínica. Se realizó una búsqueda en PubMed y la base de datos de la biblioteca Cochrane, se incluyeron artículos relacionados con las palabras clave propuestas desde el 2000. La revisión identifica genes y la asociación con estas enfermedades, expone la diversidad existente y justifica continuar la búsqueda de genes en todas las poblaciones.

Keywords: Enfermedad autoinmune reumática, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, susceptibilidad genética, GWAS

Abstract

Autoimmunity is the consequence of the loss of control and regulation of the immune response. It is reported that between 5 and 9% of pathologies occur worldwide. Diseases with this abnormality are called autoimmune and are classified according to the organ or system affected. Rheumatic diseases involve connective tissue and joints. Factors associated with its appearance include age, gender, environment, and genetics. Genetic susceptibility indicates the presence of one or more genes associated with the development of a certain disease, whose expression could be the product of migration, selection, recombination and adaptation of genes between populations, which explains the phenotypic variation and the resulting clinical expression. Genome wide association studies (GWAS) have allowed the identification of multiple genes involved with rheumatic diseases, including systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, associated with more than 60 alleles, and others such as ankylosing spondylitis, where the association has been primarily with a gene and its polymorphisms. This review aims to report the status of genetically determined susceptibility to these diseases and the impact it has on clinical expression. A search was carried out in PubMed and the Cochrane library database, articles related to the proposed keywords from the year 2000 were included. The review identifies genes and the association with these diseases, exposes the existing diversity and justifies continuing the search for genes in all populations.

Palabras claves: Rheumatic autoimmune disease, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, genetic susceptibility, GWAS



Introducción

En la patogenia de las enfermedades reumáticas autoinmunes (ERA), el principal mecanismo patogénico es la pérdida de control sobre la respuesta inmune, lo que provoca el reconocer a antígenos propios como extraños, lo que induce la activación de la respuesta humoral y celular, la acumulación de linfocitos auto reactivos y la producción de auto anticuerpos, que desencadena una respuesta inflamatoria generalizada (Javinani et al., 2019).

Se desconoce cómo se inicia el desequilibrio de la respuesta inmune, se ha propuesto que pudieran estar involucrados genes, hormonas y principalmente factores del medio ambiente, el impacto de estos últimos induciría cambios en la expresión genética (Selmi Leung et al., 2012).

Inicialmente se pensaba que el fenómeno de autoinmunidad era provocado por la presencia de genes específicos, pero, con el advenimiento de técnicas genómicas y el desarrollo de la técnica de asociación del genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés) se han encontrado múltiples genes relacionados (Deane & Carlson, 2012).

La región del genoma que consistentemente está asociada y contribuye con el 30% de la susceptibilidad genética en todas las enfermedades autoinmunes, es el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) ubicado en el cromosoma 6. Al conjunto de genes situados en esta área se les denomina genes del Antígeno del Leucocito Humano (HLA) por sus siglas en inglés; (Fernando et al., 2008).

La heterogeneidad étnica y genética contribuye a la complejidad de estas enfermedades, por lo que la búsqueda de genes implicados en la expresión de las ERA se ha extendido en las últimas décadas, y también se han encontrado genes en áreas fuera del CMH (especialmente en los cromosomas 1 y 10 y en otros con menor significancia), a los que se les ha llamado genes no HLA (Godkhe-Puranik & Niewold, 2015).

La heredabilidad podría condicionar la aparición de enfermedades autoinmunes, en lupus eritematoso sistémico (LES) se ha reportado un índice de agregación λ_s de 20% para hermanos, y λ_{mz} de 60% para gemelos (Moser et al., 2009; Selmi, Lu et al., 2012) van Dronghen & Holoshitz, 2017). Kuo y colaboradores (2017) han reportado un índice de heredabilidad para artritis reumatoide (AR) y otras enfermedades autoinmunes de 43.5% y un índice de transmisibilidad entre familiares de 59.4%.

En familiares de primer grado el 8% de las mujeres tiene un familiar afectado por estas enfermedades, y hay asociación entre miembros de una familia entre 5-12% (Alarcón-Segovia et al., 2005). Kuo y colaboradores (2017) reportan un riesgo relativo (RR) para el desarrollo de AR entre familiares de primer grado de 2.91 y para desarrollo de LES de 2.92.

Los factores medioambientales han sido relacionados con la pérdida de la auto tolerancia en sujetos que tienen predisposición genética, en las ERA la epigenética define los mecanismos implicados, siendo el más importante la hipometilación del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Selmi, Lu et al., 2012).

Esta revisión tiene como objetivo informar y delimitar, en la diversidad de genes, cuáles pueden ser de utilidad, no solo para el diagnóstico de estas enfermedades, si no en el futuro, para el tratamiento y pronóstico. Los criterios de búsqueda se centraron en las palabras susceptibilidad genética, enfermedad reumática autoinmune, patogénesis de la autoinmunidad, con filtros para estudios originales y revisiones sistemáticas (narrativas y metaanálisis), publicados a partir de 2000 y hasta la actualidad. Posteriormente se aplicó un segundo filtro para las palabras “lupus eritematoso sistémico” y “artritis reumatoide” que son las principales enfermedades reumáticas autoinmunes.

Contenido

Mecanismos patogénicos de la autoinmunidad

La primera descripción de autoinmunidad la realizó Paul Ehrlich en 1901: el horror autotoxicus, que debe entenderse como la pérdida de la regulación del sistema inmune, que dirige la respuesta inmunitaria hacia tejidos y órganos del propio organismo, lo que desencadena una enfermedad autoinmune; en la actualidad se conocen más de 78 de ellas, siendo las más importantes las que afectan el tejido conectivo y las articulaciones que se conocen como enfermedades reumáticas, las principales son: LES, AR, espondilitis anquilosante (EA), síndrome de Sjögren (SS) y las Miopatías inflamatorias (MI) entre otras. Las nuevas modalidades de recolección de información como es el caso del big data, en el futuro podrían aportar nueva información en relación con la frecuencia de estas enfermedades (Sisó-Almirall et al., 2020).

La pérdida de la auto tolerancia es el indicador principal de la desregulación de la respuesta inmune y

puede ocurrir como consecuencia de factores reconocidos. De acuerdo con Javinani y colaboradores (Javinani et al., 2019), los principales factores serían genéticos y el medio ambiente, que inducirían la participación de células y moléculas del sistema inmune:

Genética. La susceptibilidad genética es la noción más aceptada, ya que la expresión de polimorfismos de algunos genes, codificarían proteínas que influirían negativamente sobre el control de la auto tolerancia y la metilación de ADN y la modificación de las histonas (principal aporte de la epigenética), especialmente los genes de IFN (interferón) relacionados estrechamente con los cambios en la metilación y la producción de auto anticuerpos.

Factores del medio ambiente. Entre los que sobresalen los agentes vivos (virus, bacterias, etc.) por los mecanismos de: mimetismo molecular, espectador inocente, infección persistente y la presencia de super antígenos; y los agentes inorgánicos como la radiación ultravioleta, hidrocarburos, pesticidas, metales pesados, tinturas y fármacos; y las hormonas, como los estrógenos.

Células y moléculas del sistema inmune. Están implicadas directamente en la pérdida de la tolerancia inmunológica, normalmente cumplen tareas de inmunovigilancia, que permiten discriminar entre lo propio y lo no propio, y activan la respuesta inmune contra lo que no se reconoce como propio, cuando se pierde la tolerancia:

De las células B, las B2 son la principal fuente de producción de auto anticuerpos y en la presentación de antígenos auto reactivos a las células T, pueden ser inducidas por factores como los estrógenos y la prolactina. También podría existir la participación de las células B10 en la secreción de IL-10 y de las células B1 en menor grado, en la producción de autoanticuerpos reactivos (Selmi Leung et al., 2012).

De las células T, las principalmente implicadas en los últimos años son las Th17 por la producción de IL-17 como mediador de inflamación crónica, inducidas por la señal de los *Toll Like Receptors* (TLR) de tipo 2. La asociación entre las artropatías inflamatorias y el gen de IL-17A/IL-17F especialmente con el polimorfismo rs 763780 ha sido recientemente confirmada, especialmente con AR y EA (Shao et al., 2020).

Las células Treg (células T reguladoras) que normalmente son las responsables de la anergia periférica, serían responsables de la pérdida de la tolerancia inmu-

nológica al estar disminuidas y presentar menor efectividad (Javinani et al., 2019; Selmi Leung et al., 2012).

En relación con las moléculas, las principales son los TLR, ya que reconocen patrones moleculares sobre la superficie de los patógenos, y en células auto reactivas pueden activar e inducir la producción de citocinas proinflamatorias como IL-6, TNF (factor de necrosis tumoral) e IFN (Javinani et al., 2019; Selmi Leung et al., 2012).

Cualquiera que sea el mecanismo, se requiere un individuo genéticamente susceptible y una importante desregulación del sistema inmune.

Los genes en la patogenia de la ERA

Se han reportado múltiples asociaciones genéticas, los principales de acuerdo con el papel que tendrían en la patogenia de estas enfermedades, según David y colaboradores (2018) y Javinani y colaboradores (2019) serían:

- Los genes del HLA-DR asociados directamente con la activación y función de linfocitos T y B auto reactivos.
- El gen *Tumor Necrosis Factor Alpha Induced Protein 3* (TNFAIP3), está relacionado con la ruta de señalización e inducción de la síntesis del *Tumor Necrosis Factor* (TNF), a través de la activación del *Nuclear Factor Kappa beta* (NFkβ) y con participación directa en la respuesta inmune innata y en la respuesta inflamatoria.
- El gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 4* (STAT4), relacionado con la activación de células T, la ruta de señalización e inducción de la síntesis de IFN y un aumento de la actividad de los TLR en la respuesta inmune innata y la activación de la respuesta celular.
- Los genes *Interferón Receptor Factor* (IRF) especialmente el tipo 5 (IRF5), están involucrados en la ruta de señalización e inducción de la síntesis del IFN y en el aumento de la actividad de los TLR, activando la respuesta inmune innata y la secreción de otras citocinas.
- El gen *Integrin subunit Alpha M* (ITGAM) relacionado con la fagocitosis y adhesión celular fundamentales en la eliminación de complejos inmunes.
- El gen *Protein Tyrosine Phosphatase non Receptor 22* (PTPN22), relacionado con la activación de linfocitos T auto reactivos.

- El gen *FC Gamma Receptor IIA* (FCGRIIA) estaría relacionado con la deficiencia en la fagocitosis y la eliminación de complejos inmunes.
- Otros genes mencionados, pero aún menos comprendidos son el TNF-308A, PDCD1, BLK-BANK1, TYK2 (Barturen & Alarcón-Riquelme, 2018; Teruel & Alarcón-Riquelme, 2016b).
- En los últimos años se ha confirmado la asociación de otros genes en el desarrollo de estas enfermedades:
- Los genes del complemento C4A y C4B han sido relacionados tanto con un efecto protector (C4A) y con un incremento del riesgo de desarrollar enfermedades como LES y Síndrome de Sjögren (C4B), el desequilibrio se ha asociado a la expresión de HLA DRB1*03:01 especialmente en hombres (Kamitaki et al., 2020).
- Los genes relacionados con el IFN y FOXP3 estarían involucrados con los cambios en la metilación del ADN, especialmente con la inactivación de genes que contribuirían a la desregulación del sistema inmune y la pérdida de la tolerancia en las principales ERA (De la Calle-Fabregat et al., 2020).

En la Tabla 1 se muestran ejemplos de estudios que han abordado la susceptibilidad de los principales genes encontrados y relacionados con ERA.

Desarrollo de la susceptibilidad genética

Se define a la susceptibilidad genética como el riesgo heredado de desarrollar una característica en particular, también puede entenderse como la carga genética que influye conjuntamente con el medio ambiente en el fenotipo de un organismo individual, y en el caso de las enfermedades, con un aumento en la probabilidad de desarrollar una en particular.

La presencia de un gen puede influir, pero no determina la presencia de una enfermedad. Puede ocurrir que exista un individuo con los genes de susceptibilidad, pero no desarrolle la enfermedad, se denomina penetrancia incompleta. Lo contrario, un individuo que desarrolla la enfermedad, pero no tiene los genes de susceptibilidad se le llama fenocopia (Laufer et al., 2017).

Las primeras descripciones sobre genes candidatos iniciaron hace tres décadas, y se ha documentado la asociación de genes tanto HLA: DR, DP y DQ, como

no HLA: FCGRIIA, PTPN22, STAT, IRF5 y TYK2 utilizando técnicas de genotipificación individuales, que la mayoría de las veces utilizan como técnica a la Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), utilizando cebadores específicos; con el advenimiento de la tecnología para identificar eficazmente a los Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP) y la posibilidad de buscarlos en miles de muestras con técnicas modernas como la secuenciación de ADN o los Inmunochip, se abrió el camino a los estudios GWAS, que a partir del 2007 se han encargado a gran escala de confirmar los genes que ya existían, y de encontrar un número importante de nuevos genes, a los cuales aún no se les adjudica con propiedad ninguna implicación en la patogenia de estas enfermedades (Teruel & Alarcón-Riquelme, 2016a)

El mejor diseño de investigación para cuantificar la susceptibilidad de un individuo a un gen relacionado con determinada enfermedad es el estudio de casos y controles; con el cálculo del riesgo “*odds ratio*” (OR) por sus siglas en inglés, además del establecimiento de las diferencias utilizando estadística paramétrica y no paramétrica.

La aparición de los GWAS y el análisis de miles de muestras genera la realización de revisiones especializadas: los metaanálisis (Pearson & Manolio, 2008), que en los últimos años han sido la herramienta, para interpretar la expresión de múltiples genes y sus polimorfismos asociados a una enfermedad, y han brindado una mejor comprensión de las asociaciones existentes. A pesar de esto, los métodos utilizados en los GWAS requieren un estudio de validación, usualmente con métodos tradicionales (genotipificación individual por PCR), debido a los múltiples falsos positivos que pueden encontrarse (Eyre et al., 2017).

En la Figura 1 podemos ver en una línea de tiempo, los principales eventos que se han desarrollado en la búsqueda de genes en estas enfermedades.

Hoy en día puede medirse el riesgo que representa la presencia de un gen, a través del “Score Genético de Riesgo” (GRS por sus siglas en inglés), que se obtiene a partir de los GWAS y el cálculo de los OR y las frecuencias alélicas, de acuerdo con Belsky e Israel (2014) un riesgo alto incrementa la probabilidad del desarrollo de una enfermedad genéticamente determinada.

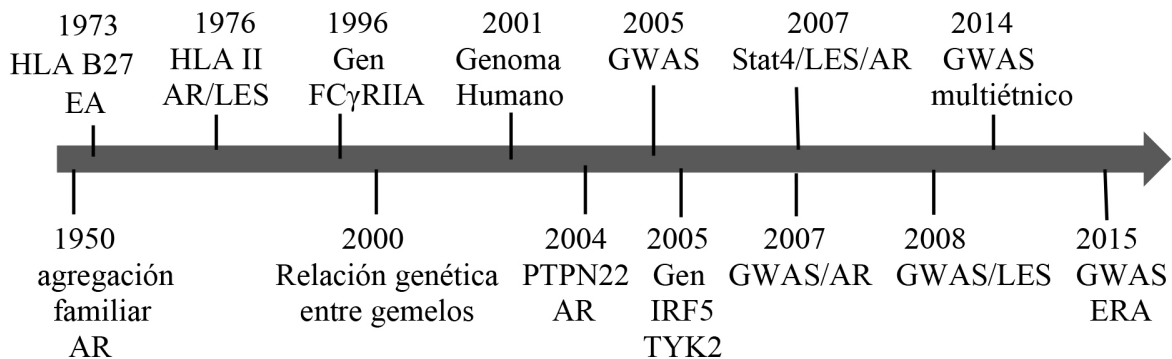
El cálculo del GRS recientemente se ha empezado a utilizar para predecir el daño orgánico (especialmente renal) y la mortalidad en estas enfermedades, y

Tabla 1

Sinopsis de los principales estudios de la susceptibilidad genética en enfermedades reumáticas autoinmunes

Gen	Enfermedad	Metodología	Población	Resultados	Referencias
HLA DRB1	AR	Fine map Estudio de asociación	Asiática 2,234	$p = 3.61 \times 10^{-112}$ > asociación	Kim et al., 2016
	LES	Fine map Estudio de asociación	Asiática 5,342	$p = 5.64 \times 10^{-17}$ > asociación	Kim et al., 2016
	LES	Uso de SNP Estudio de casos/ controles	Europea 3,701	OR 1.87 $p = .00001$	Morris et al., 2012
	AR	metaanálisis (8 estudios) Estudio de asociación	Latinoamericana 684	OR 3.28 $p = .0001$	Delgado-Vega et al., 2007
	LES	Estudio de casos y controles	Latinoamericana 747	OR 2.14 $p = .001$	Castaño-Rodríguez et al., 2008
STAT 4 ITGAM IRF5 PDCD1	LES	Uso de SNP Estudio de casos y controles	Latinoamericana 804	OR 2.34 $p = .0001$	Sánchez et al., 2010
TNFAIP3 IRF5 BLK	AR/LES	Uso de SNP Estudio de casos y controles	Europea 1,500	OR (TNFAIP3) 2.40 (IRF5) 1.97 (BLK) 1.29	Ramos et al., 2011
STAT 4	AR	metaanálisis (21 estudios)	Multiétnico 15,732	OR 1.56 $p = .0001$	Ebrahimiyani et al., 2019
PTPN22	AR	Estudio de asociación de casos y controles	Caucásica 475	OR 1.65 $p = .0006$	Carlton et al., 2005
HLA B27 ERAP 1 IL-23R	EA	Estudio de asociación de casos y controles	Caucásica 2,053	OR (HLA B27) 0.75 (ERAP 1) 1.36 (IL-23R) 1.32	Reveille et al., 2010

Figura 1
Línea del tiempo de los hallazgos genéticos en ERA



Nota. HLA = Human Leucocyte Antigen, EA = Espondilitis anquilosante, AR = Artritis reumatoide, LES = lupus eritematoso sistémico, GWAS = Genome wide associated study, ERA = enfermedad reumática autoinmune, PTPN22 = protein tirosine phosphatase non receptor 22, IRF5 = Interferon receptor factor 5, TYK2 = Tirosin Kinase 2, STAT4 = signal transducer and activator of transcription 4, FcγRIIA = Fcγgamma receptor IIA.

en lupus eritematoso sistémico, se ha encontrado una relación directa entre un mayor GRS y un peor pronóstico (Reid et al., 2020).

Como se ha mencionado los avances tecnológicos permiten ahora una mayor discriminación de secuencias genéticas y las nuevas metodologías propuestas dirigirán la investigación genética, de acuerdo con varios grupos: Eyre y colaboradores (2017), Okada y colaboradores (2017) y Yukinori y colaboradores (2017) estas metodologías son:

Análisis EQTL. (*expression quantitative trait loci*): Son secuencias de ADN específicas, que permiten relacionar causalmente la expresión de uno varios genes.

Fine mapping. Facilita la identificación de todas las variantes de genes conocidas, en un locus específico, lo que garantiza encontrar asociaciones fuertes. Es el complemento del GWAS.

Hi-C. Cuantifica interacciones entre varios fragmentos de ADN en un cromosoma y su par simultáneamente y no por separado, como habitualmente ocurre con PCR. Lo que mejora la causalidad.

Inmunochip. Es una herramienta para identificar SNP, ha permitido descubrir loci que representan riesgo para ERA.

Re-secuenciación. Complementa al *fine mapping* en la identificación de variantes no conocidas.

SNP genotyping array. Permite detectar miles de SNP a través del genoma de manera simultánea.

Susceptibilidad genética de las principales enfermedades reumáticas autoinmunes

Susceptibilidad genética en AR. Esta enfermedad es considerada autoinmune debido a que en su patogenia se encuentran involucrados algunos auto anticuerpos, que se han relacionado con la presencia de algunos genes, desde el HLA DRB1 hasta más de 100 locus genéticos encontrados con las nuevas metodologías de análisis genético. Hoy se conoce gracias a los estudios GWAS que el 80% de la expresión genética ocurre en zonas no codificadas del ADN (Matzaraki et al., 2017; Okada et al., 2018).

Los genes podrían tener las siguientes implicaciones patogénicas: Activación de células T: PTNP22, CTLA4 y FOXP3; Diferenciación celular de T a Th1: STAT4; Facilitación de la citrulinización: PADI4 y HLA DRB1.

Se estima que en el 40% de los casos, se expresa el HLA DRB1, y con el advenimiento del concepto del epítipo compartido, se amplió el rango de variantes que explican el fenómeno.

Se describe que los alelos DRB1*01, DRB1*04 y DRB1*10 presentan una importante asociación con la expresión de la enfermedad, DRB1*15 se asocia a una alta producción de anticuerpos para péptidos citrulinados (ACPA), mientras los alelos del epítipo compartido DEERA DRB1 *1301, *1302 y *1304 estarían asociados a un efecto protector para el desarrollo de AR (van der Helm-van Mil et al., 2007).

También se ha encontrado una estrecha relación entre la presencia de HLA DRB1, la sobreabundancia bacteriana y el desarrollo de AR ($p = .00001$) (Asquit et al., 2019), en apoyo a la hipótesis del mimetismo molecular asociado a la disbiosis del microbioma y la teoría del epítipo compartido, como activadores de células T e inductores del factor reumatoide y ACPA que pueden detectarse años antes de la expresión clínica de la enfermedad (Xu & Yin, 2019).

El PTPN22 es otro de los genes que tiene una importante asociación con AR, el segundo después del HLA, y se ha relacionado por su papel en la codificación de la proteína linfocítica tirosina fosfatasa, un regulador negativo de la activación de células T, la presencia de un polimorfismo (rs 2476601) podría inhabilitar la codificación de esta proteína, aunque se desconoce la consecuencia de esto, se ha demostrado que su presencia incrementa el riesgo de desarrollo de la enfermedad (Carlton et al., 2005).

También se han encontrado polimorfismos de PTPN22 que han resultado ser protectores para el desarrollo de la enfermedad, como el caso de -1123G > C, que se asocian con un nivel bajo de ACPA (Muñoz-Valle et al., 2017; Stahl et al., 2010).

Debe mencionarse el gen PADI4, involucrado por su participación en la codificación de la proteína peptidil arginina deaminasa 4, que convierte la arginina en residuos de citrulina (proceso de citrulinización), proceso ampliamente aceptado en la patogenia de la AR. Inicialmente descrito en población asiática, en el último tiempo se ha encontrado en la mayoría de las razas (Bax et al., 2011; Klareskog et al., 2006).

En los más de 100 loci que se han reportado, se mencionan asociaciones variables con otros genes: TRAF1, STAT4, FCGR2A, CD40 y CCR6 (Karami et al., 2019; Okada et al., 2018).

El estudio de los micro ARN (miRNAs por sus siglas en inglés), ha sido proyectado como un biomarcador de utilidad en AR especialmente en etapas tempranas, consistentemente se ha relacionado a dos miRNAs (miR-155 y miR-146a) con el desarrollo de AR, Romo-García y colaboradores (Romo-García et al., 2019) en una población hispana en México, han

reportado 97 miRNAs que podrían estar en relación con el desarrollo de artritis temprana, con especial significancia estadística el miR 361-5p que podría ser un marcador en el futuro.

También se ha investigado el tamaño de los telómeros, que han sido ligados al proceso inflamatorio y a la inmunidad adaptativa, y en el caso de AR algunos estudios han asociado los telómeros cortos con un incremento del riesgo; recientemente Zeng y colaboradores (2020) en un metaanálisis reporta que en pacientes con AR los telómeros son estadísticamente más cortos que los controles sanos, y los telómeros largos reducen el riesgo de desarrollar AR.

Susceptibilidad genética en LES. Es la enfermedad sistémica autoinmune por excelencia, caracterizada por la producción de auto anticuerpos que permiten el diagnóstico y seguimiento, y en cuya producción la presencia genética ha sido demostrada (Javinani et al., 2019). Los principales genes que han mostrado asociación son: HLA DRB1, FCGR, IRF5, STAT4 y en los últimos años PTPN22 y PDCD1 (Teruel & Alarcón-Riquelme, 2016b).

Se han identificado aproximadamente 60 loci de riesgo para el desarrollo de LES, y a partir de 2007 que se desarrolló el primer GWAS, se confirmó la asociación de los genes ya mencionados, y se encontró asociación con otros genes: ITGAM, IRF7 y BLK-BLK1 (Crow, 2008; Harley et al., 2008; Hom et al., 2008). Sin embargo, la participación genética solo sería responsable del 30% de la heredabilidad de esta enfermedad (Hiraki & Silverman, 2017).

Se ha propuesto que los genes pudieran estar implicados en la patogenia de la siguiente manera: Activación celular: células B, BLK y BANK1, célula T, PTPN22 y STAT4, células dendríticas, PRDM1 y ETS1; Defectos en la apoptosis: TREX1, DNASE1, DNASE1L3, FAS, FASL; Defectos del aclaramiento celular: deficiencias de C1q, C2 y C4; Inducción de la producción de citocinas y tráfico celular: IRF5, IRF7, IRF8, TNFAIP3 e ITGAM.

La asociación más importante reportada ha sido con el HLA DRB1*1501 y *0301 (Connolly & Hakonarson, 2012; Godkhe-Puranik & Niewold, 2015; Xue, 2018).

Los factores regulatorios del interferón (IRF), inducen la codificación de IFN que a su vez participan en la activación de los TLR en la respuesta inmune, de los nueve que se han descrito, tres tienen relevancia IRF5, IRF7 e IRF8. De estos el IRF5 es frecuentemente relacionado con los niveles elevados de IFN α que se

encuentran en LES, los otros con menor asociación también se han reportado como mediadores en la activación de los TLR y la producción de IFN (Graham et al., 2007; Niewold et al., 2012).

El STAT 4 es otro gen que tiene una importante asociación, codifica a la proteína de transcripción 4 que participa en la actividad y producción de IFN α , que esta presenta en la expresión de la enfermedad (Zheng et al., 2013).

El gen inductor de TNFAIP3 (proteína 3 inducible del tumor de necrosis alfa) participa en la codificación de la enzima A20, que regula NF κ B, TNF α , TLR y el receptor de IL-1 (Wang et al., 2013).

El gen PTPN22 se ha relacionado con la presencia de dos polimorfismos, Arg620Trp (rs 2476601) que incrementa el riesgo de desarrollar LES y la variante Arg263Gln que tiene un efecto de protección para el desarrollo de la enfermedad (Stanford & Bottini, 2014).

Otros genes con menor relevancia, pero que han sido identificados a partir de los GWAS son: BANK1, ITGAM cuya patogenia en LES se relaciona con la actividad de las células B y la expresión de moléculas de tráfico y adhesión celular (Bentham et al., 2015; Kozyrev et al., 2008; Nath et al., 2008).

Susceptibilidad en otras enfermedades reumáticas autoinmunes. Estas enfermedades comparten la expresión de genes, aunque no queda claro la participación que tienen en el desarrollo de éstas.

En la Espondilitis anquilosante (EA) se ha reportado una heredabilidad del 90% entre familiares de primer grado. Desde 1973 existe la asociación entre HLA B27 y el desarrollo de EA, sin embargo, una gran mayoría de individuos en quienes se ha encontrado el gen, no desarrollan la enfermedad (Hanson & Brown, 2017; Osgood & Knight, 2018).

En 2007 luego del GWAS se encontraron además del HLA B27, asociación con los genes ERA1, ERAP2 y genes que inducen el FNT y la IL-23. ERAP1 está involucrado en la expresión de la cadena de HLA B27 y en la síntesis de IL-17, mientras ERAP2 es un cofactor de expresión de ERAP1. La IL-23 a través de su receptor y señales JAK2 y STAT3 inducen la síntesis de IL-17 e IL-22, cuya participan en el proceso inflamatorio es relevante en esta enfermedad. Se induce la producción de TNF a través de sus genes TNFRFS1A, TRADD y TNFSF15, lo que facilita la perpetuidad del proceso inflamatorio (Burton et al., 2007).

El síndrome de Sjögren, regularmente se traslapa con genes de LES y AR, sin embargo, la mayoría de los reportes han encontrado asociación en: la

producción de IFN a través de IRF5 y STAT 4, que también participa en la inducción de IL-12 y la diferenciación celular hacia Th1. La vía de activación de células B, ha encontrado asociación con la expresión de BLK y la de células T con el gen CXCR5, el TNF α a través de los genes FNTAIP3 y TNIP1 (Teruel & Alarcón-Riquelme, 2016b; Reksten et al., 2016).

Las miopatías inflamatorias (MI), son un grupo de heterogéneo de enfermedades autoinmunes que afectan a los músculos, se ha reportado asociación de estas con los genes HLA DRB1*03:01 y B*08:01, con Dermatomiositis DQB1 y PTNP22 con Polimiositis en europeos (Rothwell et al., 2016). En Japón se ha reportado asociación de MI con HLA DRB1*08:03 y DPB1*05:01 (Furukawa et al., 2020).

Susceptibilidad a las enfermedades reumáticas en América Latina. La expresión genética en América Latina es el producto de la mezcla de genes de origen europeo, amerindio y africanos, los datos reportados en varios países (Estados Unidos, Chile, Colombia, México, Perú, Argentina y Brasil), ha sido consistentes con lo reportado en otras latitudes, especialmente la asociación entre el HLA DRB1 y sus epítopos compartidos en AR y LES (Alarcón-Riquelme et al., 2016; Langefeld et al., 2017)

Se ha reportado asociaciones fuertes con los siguientes genes en AR, en poblaciones de Brasil, Colombia y México: STAT4, IRF5, IL2RA, PTPN22, y las noveles asociaciones entre: SPRED2, CCL21, ENOX1, NNA25 cuyo papel aun no es conocido (Castro-Santos & Díaz-Peña, 2016; Delgado-Vega & Anaya, 2007; López Herráez et al., 2013).

De manera aislada también se ha encontrado la expresión de PADI4 como factor de riesgo en el desarrollo de AR en mestizos de México (Baños & Muñoz-Valle, 2017).

En LES también se ha encontrado una clara expresión de genes HLA DRB1, con la misma fuerza que se ha reportado en otras latitudes, mientras que genes no HLA reportados con una fuerte asociación fueron: STAT4, IRF5, ITGAM, PDCD1 y TNFSF4 (Alarcón-Riquelme et al., 2016; Castaño-Rodríguez et al., 2008; Sánchez et al., 2010).

Se ha generado discusión acerca del importante gen BLK, un activador de los linfocitos B y del gen BANK1 asociado también a la activación del linfocito B, que se ha reportado en otras latitudes, pero en el estudio inicial en América Latina, no tuvo relevancia; reserva de lo reportado por Ramírez-Bello y colabo-

radores, en una investigación recientemente realizada en población mestiza de México, han encontrado una asociación fuerte (Ramírez-Bello et al., 2019).

Conclusiones

La asociación genética en las ERA ha sido confirmada, y la susceptibilidad genética y las acciones biológicas inducidas por los genes involucrados, han sido ampliamente descritas; sin embargo, no existe un papel definido sobre su participación en la patogenia de estas enfermedades y se asumen varias posibilidades, entre las que destacan la inducción de citocinas proinflamatorias y la activación de células autorreactivas.

La expresión clínica de estas enfermedades es diversa, comparten entre ellas (con algunas variantes) genes y sus polimorfismos, y estas variaciones se han encontrado en la mayoría de los grupos raciales estudiados. Consistentemente se menciona a los genes del HLA DRB1, HLA B, PTPN22 y a los IRF (especialmente el IRF5) como los de mayor susceptibilidad genética.

La tecnología actual nos está acercando a definir con precisión a los genes que participan en el desarrollo de las ERA, y las propuestas para clasificarlas de acuerdo con la expresión genética son cada vez más aceptadas, lo que podría ser un impulso para la medicina de precisión.

Conflicto de interés y Agradecimientos

El autor declara no tener ningún conflicto de interés. Agradece la orientación en el proceso y la revisión del manuscrito al Lic. Armando Cáceres.

Referencias

- Alarcón-Riquelme, M. E., Ziegler, J., Molineros, J., Howard, T. D., Moreno-Estrada, A., Sánchez-Rodríguez, E., Ainsworth, H., Ortíz-Tello, P., Comeau, M., Rasmussen, A., Kelly, J., Adler, A., Acevedo-Vásquez, E., Cucho-Venegas, J., García-De la Torre, I., Cardiel, M., Miranda, P., Catoggio, L., Maradiaga-Ceceña, M., ... Jacob, C. (2016). GWAS in an Amerindian ancestry population reveals novel systemic lupus erythematosus risk loci and the role of European admixture. *Arthritis & Rheumatology*, *68*(4), 932-943. <https://doi.org/10.1002/art.39504>
- Alarcón-Segovia, D., Alarcón-Riquelme, M. E., Cardiel, M. H., Caeiro, F., Massardo, L., Villa, A.R., Pons-Estel, B., & Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus Eritematoso (GLADEL) (2005). Familial aggregation of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other autoimmune diseases in 1,177 lupus patients from the GLADEL cohort. *Arthritis & Rheumatology*, *52*(4), 1138-1147. <https://doi.org/10.1002/art.20999>
- Asquith, M., Sternes, P., Costello, M.E., Karstens, L., Diamond, S., Martin, T., Li, Z., Marshall, M., Spector, T., Cao, K., Rosenbaum, J., & Brown, M. (2019). HLA Alleles Associated with Risk of Ankylosing Spondylitis and Rheumatoid Arthritis Influence the Gut Microbiome. *Arthritis & Rheumatology*, *71*(10), 1642-1650. <https://doi.org/10.1002/art.40917>
- Baños, C., & Muñoz-Valle, J. (2017). PADI4 polymorphisms and the functional haplotype are associated with increased rheumatoid arthritis susceptibility: A replication study in a Southern Mexican population. *Human Immunology*, *78*, 553-558. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.05.005>
- Barturen, G., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2018). Moving towards a molecular taxonomy of autoimmune rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, *14*, 75-93. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2017.220>
- Bax, M., Van Heerdt, J., Huizinga, T. W., & Toes, R. E. (2011). Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics* *63*, 459-466. <https://doi.org/10.1007/s00251-011-0528-6>
- Belsky D., & Israel S. (2014). Integrating Genetics and Social Science: Genetic Risk Scores. *Biodemography and Social Biology*, *60*, 137-155. <https://doi.org/10.1080/19485565.2014.946591>
- Benthall J., Morris D. L., Graham, D. S. C., Pinder C. L., Tombleson P., Behrens T. W. Martin, J., Fairfax, B., Knight, J., Chen, L., Replogle, J., Syvänen, A., Rönnblom, L., Graham, R., Wither, J., Rioux, J., Alarcón-Riquelme, M. E., & Vyse, T.J. (2015). Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, *47*, 1457-1464. <https://doi.org/10.1038/ng.3434>

- Burton, P., Clayton, D., Cardon, L., & Wellcome Trust Case Control Consortium Australo-Anglo-American Spondylitis Consortium (TASC) (2007). Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nature Genetics*, *39*(11), 1329-1337. <https://doi.org/10.1038/ng.2007.17>
- Castaño-Rodríguez, N., Díaz-Gallo, L. M., Pineda-Tamayo, R., Rojas-Villarraga, A., & Anaya, J. M. (2008). Meta-analysis of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 polymorphisms in Latin American patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*, *7*, 322-330. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.12.002>
- Castro-Santos, P., & Díaz-Peña, R. (2016). Genetics of rheumatoid arthritis: a new boost is needed in Latin American populations. *Revista Brasileira de Reumatología*, *56*(2), 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.rbre.2015.10.004>
- Carlton, V. E. H., Xu, H., Chokkalingam, A. P., Schrod, S. J., Brandon, R., Alexander, H. C., Chang, M., Catanese, J., Leong, D., Ardlie, K., Kastner, D., Seldin, M., Criswell, L., Gregersen, P., Beasley, E., Thomson, G., Amos, C., & Begovich, A. B. (2005). PTPN22 Genetic variation: Evidence for multiple variants associated with rheumatoid arthritis. *American Journal of Human Genetics*, *77*, 567-581. <https://doi.org/10.1086/468189>
- Connolly, J., & Hakonarson, H. (2012). Role of cytokines in systemic lupus erythematosus: recent progress from GWAS and sequencing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2012*, 798924. <https://doi.org/10.1155/2012/798924>
- Crow, M., (2008). Collaboration, genetic associations, and lupus erythematosus. *New England Journal of Medicine*, *358*, 956-961. <https://doi.org/10.1056/NEJMe0800096>
- David, T., Ling, S., & Barton, A. (2018). Genetics of immune-mediated inflammatory diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, *193*, 3-12. <https://doi.org/10.1111/cei.13101>
- Deane, K., & Carlson, E. (2012). Environmental and gene-environment interactions and risk of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, *38*(2), 405-426. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2012.04.002>
- De la Calle-Fabregat, C., Morante-Palacios, O., & Ballestar, E. (2020). Understanding the relevance of DNA methylation changes in immune differentiation and disease. *Genes*, *11*(1), 110. <https://doi.org/10.3390/genes11010110>
- Delgado-Vega, A. M., & Anaya, J. M. (2007). Meta-analysis of HLA-DRB1 polymorphism in Latin American patients with rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews*, *6*, 402-408. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2006.11.004>
- Ebrahimiyan, H., Mostafae, S., Aslani, S., Jamshidi, A., & Mahmoudi, M. (2019). Studying the association between STAT4 gene polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis disease: An updated meta-analysis. *Iranian Journal of Immunology*, *16*(19), 71-83. <https://doi.org/10.22034/IJI.2019.39408>
- Eyre, S., Orozco, G., & Worthington, J. (2017). The genetics revolution in rheumatology: large scale genomic arrays and genetic mapping. *Nature Reviews Rheumatology*, *13*, 421-432. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2017.80>
- Fernando, M. M. A., Stevens, C. R., Walsh, E. C., De Jager, P. L., Goyette, P., Plenge, R. M., Vyse, T., & Rioux, J. D. (2008). Defining the role of the MHC in autoimmunity: a reviewed and pooled analysis. *PLoS Genetics*, *4*(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000024>
- Furukawa, H., Oka, S., Kawasaki, A., Hidaka, M., Shimada, K., Kondo, Y., Ihata, A., Matsushita, T., Matsumoto, T., Komiyama, A., Kobayashi, K., Osada, A., Katayama, M., Okamoto, A., Setoguchi, K., Kono, H., Hamaguchi, Y., Matsui, T., Fukui, N., ... Thoma, S. (2020). Human leukocyte antigen in Japanese patients with idiopathic inflammatory myopathy. *Modern Rheumatology*, *30*(4), 696-702. <https://doi.org/10.1080/14397595.2019.1637593>
- Godkhe-Puranik, Y., & Niewold, T. (2015). Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*, *64*, 125-136. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.08.004>
- Graham, R. R., Kyogoku, C., Sigurdsson, S., Vlasova, I. A., Davies, L. R. L., Baechler, E. C., Plenge, R., Koeuth, T., Ortmann, W., Hom, G., Bauer, J.,

- Gillett, C., Burt, N., Cunninghame, D., Onofrio, R., Petri, M., Gunnarsson, I., Svenungsson, E., Rönnblom, L., ... Altshuler D. (2007). Three functional variants of IFN regulatory factor 5 (IRF5) define risk and protective haplotypes for human lupus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*, 6758-6763. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701266104>
- Hanson, A., & Brown, M. (2017). Genetics and the causes of ankylosing spondylitis. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, *43*, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.006>
- Harley, J., Alarcón-Riquelme, M. E., Criswell, L., Jacob, C., Kimberly R., & Moser, K. (2008). Genome wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PTK, KIAA1542 and other loci. *Nature Genetics*, *40*, 204-210. <https://doi.org/10.1038/ng.81>
- Hiraki, L., & Silverman, E. (2017). Genomics of systemic lupus erythematosus: Insights Gained by studying monogenic young onset. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, *43*, 415-434. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.005>
- Hom, G., Graham, R. R., Modrek, B., Taylor, K. E., Ortmann, W., Garnier, S., Lee, A., Chung, S., Ferreira, R., Pant, K., Ballinger, D., Kosoy, R., Demirci, Y., Ilyas, M., Kao, A., Tian, C., Gunnarsson, I., Bengtsson, A., Rantapää-Dahlqvist, S., Petri, M., ... Behrens T.W. (2008). Association of systemic lupus erythematosus with C8orf13-BLK and ITGAMITGAX. *New England Journal of Medicine*, *358*, 900-909. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0707865>
- Javanani, A., Ashraf-Ganjouei, A., Aslani, S., Jamshidi, A., & Mahmoudi, M. (2019). Exploring the etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: a genetic perspective. *Immunogenetics*, *71*(4), 283-297. <https://doi.org/10.1007/s00251-019-01103-2>
- Kamitaki, N., Sekar, A., Handsaker, R., de Rivera, H., Tooley, K., Morris, D.L., Taylor, K., Whelan, C., Tomblinson, P., Olde, L., Boehnke, M., Kimberly, R., Kaufman, K., Harley, J., Langefeld, C., Seidman, C., Pato, M., Pato, C., Ophoff, R., Graham, R., ... McCarroll, S. A. (2020). Complement genes contribute sex-biased vulnerability in diverse disorders. *Nature*, *582*, 577-581. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2277-x>
- Karami, J., Aslani, S., Jamshidi, A., Garhasbi M., & Mahmoudi, M. (2019). Genetic implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis; an updated review. *Gene*, *702*, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.03.033>
- Kim, K., Bang, S.-Y., Hyun Yoo, D., Cho, S.-K., Choi, C.-B., Sung, Y.-K., Kim, T.-H., Jun, J.-B., Kang, Y., Suh, C.-H., Shim, S.-C., Lee, S.-S., Lee, J., Chung, W., Kim, S.-K., Choe, J.-Y., Nath, S., Lee, H.-S., & Bae, S.-C. (2016). Imputing variants in HLA-DR beta genes reveals that HLA-DRB1 is solely associated with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *PLoS ONE*, *11*(2), e0150283. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150283>
- Klareskog, L., Padyukov, L., Lorentzen, J., & Alfredsson, L. (2006). Mechanisms of disease: Genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis. *Nature Review Rheumatology*, *2*, 425-433. <https://doi.org/10.1038/nrcprheum0249>
- Kozyrev, S., Abelson, A., Wojcik, J., Zaghlool, A., Linga, M., Sánchez, E., Gunnarsson, I., Svenungsson, E., Sturfelt, G., Jönsen, A., Truedsson, L., Pons-Estel, B., Witte, T., D'Alfonso, S., Barizzone, N., Danieli, M.-G., Gutierrez, C., Suarez, A., Junker, P., ... Alarcón-Riquelme, M. E. (2008). Functional variants in the B cell gene BANK1 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, *40*, 211-216. <https://doi.org/10.1038/ng.79>
- Kuo, C.-F., Grainge, M., Valdes, A., See, L.-C., Yu, K.-H., Shaw, S., Lou, S.-F., Zhang, W., & Doherty, M. (2017). Familial aggregation of rheumatoid arthritis and co-aggregation of autoimmune diseases in affected families: A nationwide population-based study. *Rheumatology*, *56*, 928-933. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew500>
- Langefeld, C.D., Ainsworth, H., Cunninghame, D., Kelly, J., Comeau, M., Marion, M., Howard, T., Ramos, P., Croker, J., Morris, D., Sandling, J., Carlsson, J., Acevedo-Vásquez, E., Alarcón,

- G., Babini, A., Baca, V., Bengtsson, A., De la Rúa Figueroa, I., Doria, A., ... Vyse, T. (2017). Transancestral mapping and genetic load in systemic lupus erythematosus. *Natural Communications*, 8, 16021. <https://doi.org/10.1038/ncomms16021>
- Laufer, V., Chen, J., Langefeld, C., & Bridges, L. (2017). Integrative approaches to understanding the pathogenic role of genetic variation in rheumatic diseases. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, 43(3), 449-466. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.012>
- López Herráez, D., Martínez-Bueno, M., García de la Torre, I., Sacnún, M., & Goñi, M. (2013). Rheumatoid arthritis in Latin Americans enriched for Amerindian ancestry is associated with loci in chromosomes 1, 12 and 13, and the HLA class II region. *Arthritis & Rheumatology*, 65(6), 1457-1467. <https://doi.org/10.1002/art.37923>
- Matzaraki, V., Kumar, V., Wijmenga, C., & Zhernakova, A. (2017). The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biology*, 18, 76, 2-21. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1207-1>
- Morris, D., Taylor, K., Fernando, M., Nititham, J., Alarcón-Riquelme, M. E., Barcellos, L., Behrens, T., Cotsapas, C., Gaffney, P., Graham, R., Pons-Estel, B., Gregersen, P., Harley, J., Hauser, S., Hom, G., Langefeld, G., Noble, J., International MHC and Autoimmunity Genetics Network & Vyse T. (2012). Unraveling multiple MHC gene associations with systemic lupus erythematosus: Model choice indicates a role for HLA alleles and non-HLA genes in Europeans. *American Journal of Human Genetics* 91, 778-793. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.08.026>.
- Moser, K., Kelly, J., Lessard, C., & Harley, J. (2009). Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Genes Immunology*, 10, 373-379. <https://doi.org/10.1038/gene.2009.39>
- Muñoz-Valle, J., Padilla-Gutiérrez, J., Hernández-Bello, J., Ruiz-Noa, Y., Valle, Y., Palafox-Sánchez, C., Parra-Rojas, I., Gutiérrez-Ureña, S., & Rangel-Villalobos, H. (2017). Polimorfismo -1123G>C en el gen PTPN22 y anticuerpos antipéptido citrulinado cíclico en la artritis reumatoide. *Reumatología Clínica*, 149(3), 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.01.025>
- Nath, S., Han, S., Kim-Howard, X., Kelly, J., Viswanathan, P., Gilkeson, G., Chen, W., Zhu, C., McEver, R., Kimberly, R., Alarcón-Riquelme, M.-E., Vyse, T., Li, Q.-Z., Wakeland, E., Merrill, J., James, J., Kaufman, K., Guthridge, J., & Harley, J. (2008). A nonsynonymous functional variant in integrin-alpha (M) encoded by ITGAM is associated with systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 40, 152-154. <https://doi.org/10.1038/ng.71>
- Niewold, T., Kelly, J., Kariuki, S., Franek, B., Kumar, A., Kaufman, K., Thomas, K., Walker, D., Kamp, S., Frost, J., Wong, G., Merrill, J., Alarcón-Riquelme, M.-E., Tikly, M., Ramsey-Goldman, R., Reveille, J., Petri, M., Edberg, J., Kimberly, P., ... Harley, J. B. (2012). IRF5 haplotypes demonstrate diverse serological associations which predict serum interferon alpha activity and explain the majority of the genetic association with systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(3), 463-468. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200463>
- Okada, Y., Kishikawa, T., Sakaue, S., & Hirata, J. (2017). Future directions of genomics in rheumatic diseases. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, 43(3), 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.009>
- Okada, Y., Eyre, S., Suzuki, A., Kochi Y., & Yamamoto, K. (2018). Genetic of rheumatoid arthritis: 2018 status. *Annals of Rheumatic Diseases*, 78, 446-473. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213678>.
- Osgood, J. E., & Knight, J. C. (2018). Translating GWAS in rheumatic disease: Approaches to establishing mechanism and function for genetic associations with ankylosing spondylitis. *Briefing in Functional Genomics*, 17(5), 308-318. <https://doi.org/10.1093/bfgp/ely015>
- Pearson, T. A., & Manolio, T. A. (2008). How to interpret a genome wide association study. *Journal American Medical Association*, 299(11), 1335-1344. <https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1335>
- Ramírez-Bello, J., Jiménez-Morales, S., Montufar-Robles, I., Fragoso, J., Barbosa-Cobos, R. E., Saavedra, M. A., & Sánchez-Muñoz, F. (2019). BLK and BANK1 polymorphisms and interactions are associated in Mexican patients

- with lupus erythematosus. *Inflammation Research*, 68, 705-713. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01253-9>
- Ramos, P., Criswell, L. A., Moser, K. L., Comeau, M. E., Williams, A. H., Pajewski, N. M., Chung, S., Graham, R., Zidovetzki, R., Kelly, J., Kaufman, K., Jacob, C., Vyse, T., Tsao, B., Kimberly, R., Gaffney, P., Alarcón-Riquelme, M.-E., Harley, J., Langefeld, C., & International Consortium of the Genetics of Systemic Erythematosus Lupus (SLEGEN). (2011). A comprehensive analysis of shared loci between systemic lupus erythematosus and sixteen autoimmune diseases reveals limited genetic overlap. *PLoS Genetics*, 7(12), e1002406. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002406>
- Reid, S., Alexsson, A., Frodlund, M., Morris, D., Sandling, J. K., Bolin, K., Svenungsson, E., Jönsen, A., Bengtsson, C., Gunnarsson, I., Illescas Rodriguez, V., Bengtsson, A., Arve, S., Rantapää-Dahlqvist, S., Eloranta, M.-L., Syvänen, A.-C., Sjöwall, C., Vyse, T., Rönnblom, R., & Leonard, D. (2020). High genetic risk score is associated with early disease onset, damage accrual and decreased survival in systemic lupus erythematosus. *Annals of Rheumatic Diseases*, 79, 363-369. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-216227>
- Reksten, T. R., Lessard, C. J., & Sivils, K. L. (2016). Genetics in Sjögren syndrome. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, 42, 435-447. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2016.03.003>
- Reveille, J., Sims, A., Danoy, P., Evans, D., Leo, P., Pointon, L., Jin, R., Zhou, X., Bradbury, L., Appleton, L., Davis, J., Diekman, L., Doan, T., Dowling, A., Duan, R., Duncan, E., Farrar, C., Hadler, J., Harvey, D., ... Brown, M. [The Australo-Anglo-American Spondyloarthritis Consortium (TASC)]. (2010). Genome-wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. *Nature Genetics*, 42(2), 123-127. <https://doi.org/10.1038/ng.513>
- Romo-García, M.F., Bastian, Y., Zapata-Zúñiga, M., Macías-Segura, N., Castillo-Ortiz, J.D., Lara-Ramírez, E.E., Fernández-Ruiz, J., Berlanga Taylor, A., González-Amaro, R., Ramos-Remus, C., Enciso-Moreno, J., & Castañeda-Delgado, J.E. (2019). Identification of putative miRNA biomarkers in early rheumatoid arthritis by genome-wide microarray profiling: A pilot study. *Gene*, 720, 144081. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144081>
- Rothwell, S., Cooper, R.G., Lundberg, I. E., Miller, F.W., Gregersen, P. K., Bowes, J., Vencosvsky, J., Danko, C., Lymaye, V., Selva-O'Callaghan, A., Hanna, M., Machado, P., Pachman, L., Reed, A., Rider, L., Cobb, J., Platt, H., Molberg, O., Benveniste, O., Mathiessen, P., ... Lamb, J. (Myositis Genetic Consortium). (2016). Dense genotyping of immune-related loci in idiopathic inflammatory myopathies confirms HLA alleles as the strongest genetic risk factor and suggests different genetic background for major clinical subgroups. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 75(8), 1558-66. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-208119>
- Sánchez, E., Webb, R. D., Rasmussen, A., Kelly, J. A., Riba, L., Kaufman, K. M., García-de la Torre, I., Moctezuma, J., Maradiaga-Ceceña, M., Cardiel-Rios, M., Acevedo, E., Cucho-Venegas, M., García, M., Gamron, S., Pons-Estel, B., Vasconcelos, C., Martin, J., Tusié-Luna, T., Harley, J., ... Alarcón-Riquelme, M. E. (2010). Genetically determined Amerindian ancestry correlates with increased frequency of risk alleles for systemics lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*, 62(12), 3722-3729. <https://doi.org/10.1002/art.27753>
- Selmi, C., Leung, P. S. C., Sherr, D. S., Diaz, M., Nyland, J. F., Monestier, M., Rose, N., & Gershwin, M. E. (2012). Mechanism of environmental influence on human autoimmunity: A national institute of environmental health sciences expert panel workshop. *Journal of Autoimmunity*, 39, 282-284. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2012.05.007>

- Selmi, C., Lu, Q., & Humble, M. C. (2012). Heritability versus the role of the environment autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, *39*, 249-252. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2012.07.011>
- Shao, M., Xu, S., Yang, H., Xu, W., Deng, J., Chen, Y., Gao, X., Guan, S., Xu, S., Shuai, Z., & Pan, F. (2020). Association between IL-17A and IL-17F gene polymorphism and susceptibility in inflammatory arthritis: A meta-analysis. *Clinical Immunology* *213*, 108374. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108374>
- Sisó-Almirall, A., Kostov, B., Martínez-Carbonell, E., Brito-Zerón, P., Blanch Ramirez, P., Acar-Denizli, N., Delicado, P., González-Martínez, S., Velasco Muñoz, C., Benavent Àreu, J., & Ramos-Casals, M. (2020). The prevalence of 78 autoimmune diseases in Catalonia (MASCAT-PADRIS Big Data Project). *Autoimmunity Reviews*, *19*(2), 102448. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.102448>
- Stahl, E. A., Raychaudhuri, S., Remmers, E. F., Xie, G., Eyre, S., Thomson B. P., Li, Y., Kurreeman, F., Zhernakova, A., Hinks, A., Guiducci, C., Chen, R., Alfredsson, L., Amos, C., Ardlie, K., Barton, A., BIRAC Consortium., Bowes, J., Burtt, N., ... Plenge, R. M. (2010). Genome wide association study meta-analysis identified seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nature Genetics*, *42*, 508-514. <https://doi.org/10.1038/ng.582>
- Stanford, S. M., & Bottini, N. (2014). PTPN22: the archetypal non-HLA autoimmunity gene. *Nature Review Rheumatology*, *10*, 602-611. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2014.109>
- Teruel, M., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2016a). The genetic basis of systemic lupus erythematosus: What are the risk factors and what have we learned. *Journal of Autoimmunity*, *74*, 161-175. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.08.001>
- Teruel, M., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2016b). Genetics of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome: an update. *Current Opinion Rheumatology*, *28*(5), 506-514. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000310>
- van der Helm-van Mil, A., Verpoort, K., Le Cessie, S., Huizinga, T., De Vries, R., & Toes, R. (2007). The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis & Rheumatology*, *56*, 425-432. <https://doi.org/10.1002/art.22373>
- van Drongelen, V., & Holoshitz, J. (2017). Human leukocyte antigen disease associations in rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, *43*(3), 363-376. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.003>
- Wang, S., Wen, F., Wiley, G., Kinter, M., & Gaffney, P. (2013). An enhancer element harboring variant associated with systemic lupus erythematosus engages the TNFAIP3 promote to influence A20 expression. *PLoS Genetics*, *9*, Article e1003750. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003750>
- Xu, H., & Yin, J. (2019). HLA risk alleles and gut microbiome in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, *33*(6), 101499. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2020.101499>
- Xue, K., Niu, W., & Cui, Y. (2018). Association of HLA-DR3 and HLA-DR15 Polymorphisms with Risk of Systemic Lupus Erythematosus. *Chinese Medical Journal*, *131*(23), 2844-51. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.246058>
- Yukinori, O., Kishikawa, T., Sakaue, S., & Hirata, J. (2017). Future directions of genomics research in rheumatic diseases. *Rheumatic Diseases Clinics of North American*, *43*(3), 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2017.04.009>
- Zeng, G., Zang, W., Qian, Y., Huang, H., Wu, D., He, Z., Ye, D., Mao, Y., & Wen, C. (2020). Association of telomere length with risk of rheumatoid arthritis: a meta-analysis and Mendelian randomization. *Rheumatology*, *59*(5), 940-947. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez524>
- Zheng, J., Yin, J., Huang, R., Peterson, F., & Yu, X. (2013). Meta-analysis reveals an association of STAT4 polymorphisms with systemic autoimmune disorders and anti dsDNA antibody. *Human Immunology*, *74*, 986-992. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.04.034>

Encuesta entomológica y caracterización de las viviendas con el vector de la enfermedad de Chagas, en aldea Chuchuapa, Santa Rosa, Guatemala

Entomological survey and characterization of houses with the vector of Chagas disease, in Chuchuapa village, Santa Rosa, Guatemala

David A. Girón¹, Jimmy Saucedo¹, Juan Ordoñez¹, María Villagrán¹, Ángel Ojeda¹,
María Merlos¹, Silvia Castro¹, Federico Nave²

¹Facultad de Ciencias Médicas, ²Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: dvd.gg93@gmail.com

Recibido: 13 de agosto 2019 / Revisión: 05 de febrero 2020 / Aceptado: 11 de junio 2020

Resumen

En Guatemala en el 2015, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) reportó nuevos casos de la enfermedad de Chagas en la región suroriental del país, siendo Santa Rosa uno de los departamentos endémicos en donde *Triatoma dimidiata* es el principal transmisor. Se estimó la infestación de *T. dimidiata* en la aldea Chuchuapa, municipio de Santa María Ixhuitán, de abril a junio de 2019, se calcularon los índices entomológicos y se caracterizaron intra y peridomiciliar 149 viviendas (79.67% de las viviendas habitadas). Los datos se obtuvieron mediante un cuestionario mixto, en entrevista cara a cara y evaluación de las viviendas, por un equipo profesional experimentado, mediante el método y protocolo estándar hombre-hora. Se capturaron 20 triatomos en 10 viviendas, con un índice de infestación de 6.71% (10/149), un índice de densidad de 13.42% (20/149), 19 triatomos intradomiciliares y uno peridomiciliar, con un índice de infección natural por *Trypanosoma cruzi* intradomiciliar de 26.3% (5/19), índice de infección natural por *T. cruzi* peridomiciliar de 100.0% (1/1) e índice de infección natural por *T. cruzi* en los triatomos capturados de 30.0% (6/20). Las viviendas infestadas presentaron techo de lámina, pared de bajareque con grietas y sin repello, piso de tierra y afiches en la pared, acumulación de leña u otros materiales tanto intra como peridomiciliar, convivencia con animales domésticos y tenencia de animales de corral. Los resultados representan un alto riesgo para la transmisión de la enfermedad de Chagas entre los habitantes de la aldea.

Palabras claves: Índices entomológicos, Factores de riesgo, *Triatoma*, Intradomiciliar, Peridomiciliar

Abstract

In Guatemala in 2015, the Ministry of Public Health and Social Assistance reported new cases of Chagas disease in the southeastern region of the country, with Santa Rosa being one of the endemic departments where *Triatoma dimidiata* is the main transmitter. The infestation of *T. dimidiata* was estimated in the Chuchuapa village, municipality of Santa María Ixhuitán, from April to June 2019, the entomological indices were calculated and 149 dwellings were characterized intradomiciliary and peridomiciliary (79.67% of the inhabited dwellings). The data were obtained through a mixed questionnaire, in a face-to-face interview and evaluation of the dwellings, by an experienced professional team, using the standard man-hour method and protocol. 20 triatomines were captured in 10 homes, with an infestation index of 6.71% (10/149), a density index of 13.42% (20/149), 19 intradomiciliary triatomines and one peridomiciliary, with a natural infection index by intradomiciliary *Trypanosoma cruzi* of 26.3% (5/19), natural infection index by peridomiciliary *T. cruzi* of 100.0% (1/1) and natural infection index by *T. cruzi* in captured triatomines of 30.0% (6/20). The infested dwellings have a sheet roof, a wattle and daub wall with cracks and no wall plaster, dirt and posters on the wall, accumulation of firewood and other materials in both intradomiciliary and peridomiciliary, living with domestic animals and keeping poultry animals. The results represent a high risk for the transmission of Chagas disease among the villager.

Keywords: Entomological Indexes, Risk Factors, *Triatoma*, Intradomiciliary, Peridomiciliary



Introducción

La enfermedad de Chagas es una enfermedad metaxénica, endémica y desatendida; según la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay de seis a siete millones de personas afectadas a nivel mundial, siendo una enfermedad endémica en América Latina (OMS, 2018b). Se estima que alrededor de 10,000 personas fallecen al año a causa de sus manifestaciones clínicas y más de 25 millones se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad en el mundo (Bustamante et al., 2015).

Respecto al vector de la enfermedad de Chagas en Latinoamérica se ha descrito una amplia gama de triatomíneos (26 de las 144 especies conocidas), donde *Triatoma dimidiata* y *Rhodnius prolixus* se transforman en vectores recurrentes en las viviendas, especialmente en Costa Rica, Ecuador, Guatemala, El Salvador y Nicaragua (Quirós-Gómez et al., 2017). *Triatoma dimidiata* es el vector más importante en América Central, por lo que reducir la infestación domiciliar es uno de los tres objetivos principales de la Iniciativa de los Países de Centro América (IPCA) (OMS, 2018a). Guatemala es un país endémico para esta enfermedad, por ello sigue siendo un tema de interés ya que existen estudios de distinta índole epidemiológica, entre ellos, uno realizado en el 2003 sobre la epidemiología de la enfermedad de Chagas donde se analizó la infestación por tres especies de vectores *T. dimidiata*, *R. prolixus* y *Triatoma nitida*, brindando información sobre la distribución vectorial en el territorio guatemalteco. *T. dimidiata*, vector con más probabilidad de poseer el parásito de *Trypanosoma cruzi*, se encontró diseminado en 16 de los 22 departamentos, incluyendo Santa Rosa (Monroy et al., 2003).

Los reportes documentados de esta enfermedad concuerdan que las características de las viviendas asociadas a la presencia del vector y la reinfestación de los vectores típicos de la región son los siguientes: paredes no repelladas o parcialmente repelladas con grietas, fabricadas de bajareque o adobe, piso de tierra, techo de palma, paja y lámina, con pocas habitaciones que favorezcan el hacinamiento, acumulación de material de construcción y presencia de animales domésticos, con localización en la periferia de gallineros o corrales (Bustamante et al., 2015; Quirós-Gómez et al., 2017). Así como materiales de construcción, granos, madera y/o leña para el consumo y cercanía con árboles frutales. También el uso de mosquiteros, pabellones, desorden dentro y fuera de las viviendas (Bustamante et al., 2015).

El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), realizó un proyecto de control de vectores con la cooperación japonesa en el 2000 para reducir el riesgo de infección por medio de la eliminación de *R. prolixus*. Este consistió en la realización de campañas de fumigación con dos ciclos de rociamiento de insecticida residual y cubrió más del 98% de las casas en las aldeas identificadas (Hashimoto et al., 2012). A nivel internacional en el 2008 Guatemala fue reconocida y certificada por la eliminación de *R. prolixus* y el control de *T. dimidiata*. Sin embargo, se reportan casos continuamente de enfermedad, en el sur de Guatemala ya que *T. dimidiata* se mueve entre casas y aldeas con la frecuencia suficiente como para recolonizar, dificultando el control vectorial de la enfermedad. En el 2015 se estudió la estructura genética de la población de *T. dimidiata* recolectados de seis aldeas, dando a conocer que el uso de rociamientos simples sin otro método de intervención no es efectivo para la eliminación de este vector (Stevens et al., 2015).

Los últimos estudios realizados en la región de Santa Rosa, Guatemala, sobre la enfermedad de Chagas tienen una antigüedad de más de 20 años. Uno de los últimos descritos, se realizó en el 1997, donde se estudió una población de 1,085 habitantes residentes y originarios de Santa María Ixhuitán, que demostró una prevalencia de 126 (11.61%) casos seropositivos para anticuerpos contra *T. cruzi* en la población estudiada (De León, 1997), además que el MSPAS en 2015 reportó casos en la región suroriental del país y según información del Departamento de Vectores, existe evidencia de la presencia del vector actualmente en la región estudiada, ya que las condiciones del municipio son propicias para la proliferación del triatomino J. Zarceño, Jefe del departamento de vectores y enfermedades zoonóticas (comunicación personal, abril 2018). Durante los últimos tres años en el área de salud de Santa Rosa se reportaron 107 casos seropositivos de la enfermedad de Chagas, Epidemióloga del área de Santa Rosa (E. Reyes, comunicación personal, julio 2018).

El presente caso surgió de la necesidad de estudiar y describir la situación actual de la aldea Chuchupa del municipio de Santa María Ixhuitán, departamento de Santa Rosa, en cuanto a la presencia del vector *T. dimidiata*, sus índices entomológicos y caracterización de las viviendas, por medio de la realización de una encuesta entomológica domiciliar, entrevista cara a cara al jefe o responsable de la vivienda mayor de 18 años y evaluación directa de las características de las viviendas, mediante el método estándar

hombre-hora; con lo cual se espera contribuir a tener datos que alerten a las autoridades del MSPAS sobre el posible riesgo de adquirir la enfermedad de Chagas que puedan tener los habitantes de dicha comunidad.

Presentación del caso

Se realizó una encuesta entomológica de las viviendas habitadas de la aldea Chuchuapa, municipio de Santa María Ixhuatán, que se encuentra en la región suroriental del departamento de Santa Rosa, de la república de Guatemala, tomando como base el conteo poblacional del 2017 del Área de Salud de Santa Rosa. Los datos se obtuvieron del jefe o responsables mayores de 18 años que estuvieran presentes en las viviendas al momento de la encuesta, la participación fue voluntaria, acompañada con firma de consentimiento informado o huella digital. Se recolectó la información mediante la realización de un cuestionario mixto conformado por una entrevista cara a cara y evaluación visual directa de las características intra y peridomiciliar en las viviendas.

Se buscó el vector en las áreas descritas de la vivienda mediante el método estándar hombre-hora. Fueron evaluadas 149 viviendas que permitieron su ingreso y correcta evaluación cumpliendo con los criterios establecidos, se evidenció una cobertura de las viviendas del 79.70% para la determinación de los índices entomológicos. Los triatominos encontrados fueron almacenados y transportados al Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología (Lenap), posteriormente fueron evaluados macroscópicamente para determinar la especie y microscópicamente para identificar la infección por *T. cruzi*.

Se capturaron 20 triatominos que estaban distribuidos en 10 viviendas, de los cuales en seis de ellos se encontró el parásito *T. cruzi* durante la evaluación microscópica. La infestación del vector en las viviendas fue de 6.71% (10/149), con un índice de densidad de 13.42% (20/149), 19 triatominos intradomiciliares y uno peridomiciliar, el índice de infección natural por *T. cruzi* intradomiciliar fue de 26.3% (5/19), el cual se encuentra dentro de la media del país, y el índice de infección natural fue de 30.0% (6/20), el índice de infección natural del peridomicilio fue de 100%, aunque solamente representa a un triatolino capturado el cual estaba infectado por *T. cruzi*.

De las viviendas que presentaron *T. dimidiata*, las características intradomicilio más comunes fueron: techo de lámina, pared de bajareque agrietadas o con

fisuras, pisos de tierra, afiches en paredes, convivencia con animales domésticos durante el día y presencia de animales de corral, leña y otros materiales acumulados, ausencia de mosquitero y paredes sin repello. En tanto que las características peridomicilio más comunes fueron: animales de corral, animales domésticos, acumulación de leña y otros materiales. Tanto las características intradomiciliares como peridomiciliares fueron similares para las viviendas que no presentaron el vector (139/149), con la excepción que la mayoría de estas tenían pared de block, presencia de animales domésticos más que aves de corral intradomiciliariamente, así como reducida cantidad de viviendas con criaderos de animales peridomiciliariamente (Tablas 1 y 2).

Discusión

En este reporte, se encontró *T. dimidiata* como único vector de la enfermedad de Chagas, al igual que en estudios previos realizados en el departamento de Santa Rosa (Monroy et al., 2003); a nivel nacional se han reportado ocho especies de triatominos, pero con la erradicación de *Rhodnius prolixus*, *T. dimidiata* es sin duda el vector más importante (Peterson, Hashimoto et al., 2019). Naturalmente, esta especie ha sido encontrada en climas cálidos en bosques secos y húmedas, desde el nivel del mar hasta 2,000 m s. n. m. (Bustamante et al., 2009), la aldea Chuchuapa brinda un hábitat idóneo para la proliferación del vector, lo cual se demuestra por el índice de infestación de 6.71% encontrado, la cual es un porcentaje considerable y evidencia la presencia del vector como potencial transmisor de la enfermedad de Chagas. Esto representado en valores por cada 100 habitantes indica que prácticamente 7 de cada 100 viviendas se encuentran infestadas con el vector, con un índice de infección natural intradomicilio de 26.3%, el cual podría ser considerado elevado, manifestando la falta de medidas de control en la construcción de viviendas y de la concientización de la población, pudiéndose considerar como una enfermedad desatendida en este departamento, ya que se han centrado los esfuerzos de control más que todo en Chiquimula y Jutiapa y se considera como de baja prioridad a nivel nacional (Peterson Hashimoto et al., 2019; Peterson, Yoshika, 2019); en Chiquimula, el índice de infestación observado en el 2000 fue de 21.13% habiendo disminuido en el 2007 a 2.0%, luego de aplicar medidas de control, lo que evidencia lo indicado sobre la falta de atención al departamento de Santa Rosa, aunque este índice no llegó a ser tan elevado (Chávez, 2020).

Tabla 1
Características intradomiciliares de las viviendas estudiadas

Características en el intradomicilio		Presencia de triatomino en la vivienda				Total f	Total %
Variable	Categoría	Sí		No			
		f	%	f	%		
Techo	Lámina	9	6.04	130	87.25	139	93.29
	Cemento	1	0.67	8	5.37	9	6.04
	Teja	-	-	1	0.67	1	0.67
Pared	Block	-	-	67	44.97	67	44.97
	Bajareque	9	6.04	23	15.44	32	21.48
	Tablas	-	-	23	15.44	23	15.44
	Adobe	1	0.67	4	2.68	5	3.36
	Otros	-	-	22	14.77	22	14.77
Piso	Tierra	9	6.04	75	50.34	84	56.38
	Torta de cemento	1	0.67	53	35.57	54	36.24
	Piso cerámico	-	-	11	7.38	11	7.38
Afiches en paredes	Sí	9	6.04	113	75.84	122	81.88
	No	1	0.67	26	17.45	27	18.12
Animales en el intradomicilio	Animales domésticos	5	3.36	64	42.95	69	46.31
	Animales de corral	10	6.71	42	28.19	52	34.90
	Animales silvestres	-	-	3	2.01	3	2.01
	Ninguno	-	-	53	35.57	53	35.57
Materiales en el intradomicilio	Leña	7	4.70	59	39.60	66	44.30
	Otros	5	3.36	60	40.27	65	43.62
	Granos	3	2.01	38	25.50	41	27.52
	Madera	1	0.67	9	6.04	10	6.71
	Lámina	-	-	4	2.68	4	2.68
	Block	-	-	3	2.01	3	2.01
	Teja	-	-	1	0.67	1	0.67
	Ninguno	-	-	3	2.01	3	2.01
Ausencia de medidas protectoras	Mosquitero	10	6.71	94	63.09	104	69.80
	Pabellón	8	5.37	94	63.09	102	68.46
	Fumigación	8	5.37	80	53.69	88	59.06
	Paredes de repello	10	6.71	71	47.65	81	54.36
	Ninguno	-	-	3	2.01	3	2.01
Convivencia con animales domésticos	Día	10	6.71	114	76.51	124	83.22
	Noche	-	-	18	12.08	18	12.08
	No aplica	-	-	15	10.07	15	10.07

Tabla 2

Características peridomiciliares de las viviendas estudiadas

Características en el peridomicilio		Presencia de triatomino en la vivienda				Total f	Total %
Variable	Categoría	Sí		No			
		f	%	f	%		
Animales en el peridomicilio	Animales domésticos	7	4.70	76	51.01	83	55.70
	Animales de corral	8	5.37	75	50.34	83	55.70
	Animales silvestres	-	-	3	2.01	3	2.01
	Ninguno	-	-	25	16.78	25	16.78
Criaderos de animales	Gallineros	4	2.68	37	24.83	41	27.52
	Corrales	2	1.34	20	13.42	22	14.77
	Jaulas	-	-	8	5.37	8	5.37
	Cochiqueras	2	1.34	6	4.03	8	5.37
	Ninguno	4	2.68	76	51.01	80	53.69
Materiales en el peridomicilio	Leña	9	6.04	111	74.50	120	80.54
	Granos	1	0.67	14	9.40	15	10.07
	Madera	1	0.67	8	5.37	9	6.04
	Lámina	-	-	4	2.68	4	2.68
	Block	2	1.34	2	1.34	4	2.68
	Ninguno	-	-	3	2.01	3	2.01
	Teja	-	-	2	1.34	2	1.34
Otros	5	3.36	35	23.49	40	26.85	

De los 20 vectores recolectados, 19 (95%) fueron encontrados intradomiciliariamente, lo que concuerda con un estudio realizado en Colombia donde el 93% de los triatominos fueron capturados en ambientes intradomiciliarios (Cortés & Suárez, 2005). El índice de infestación fue de 6.71% indicando el índice de infestación del vector en esta región, el índice de densidad muestra que en 13 de cada 100 viviendas se encontrará el triatomino, de los cuales 30 % estará infectado con *T. cruzi* según el índice de infección natural, dato superior al reportado por Juárez y colaboradores (2018) para el departamento de Jutiapa en 2011 que fue de 26.9% de infestación natural, aunque con una prevalencia de 20.5% y también superior al índice de infestación de 24.0% en El Carrizal, Jutiapa (Cahan et al., 2019). Por otra parte, según los índices reportados por Lima-Cordón y colaboradores (2018), para el municipio de Olopa, departamento de Chiquimula para el 2011 se reportó un porcentaje de infección natural muy infe-

rior (8%) al encontrado en este reporte. Aunque para el 2017, se reportaba un porcentaje de infestación de 2.75% en comunidades de ambos departamentos, luego de un programa de vigilancia del vector y aplicación de insecticida a domicilios (Peterson, Hashimoto et al., 2019), lo cual no se ha realizado en la aldea reportada en este artículo.

Los índices de densidad y de infección natural, se explican en parte, por las condiciones de las viviendas, tal y como indican Bustamante y colaboradores (2009) en una investigación sobre factores de riesgo para infestación intradomiciliaria del vector de la enfermedad de Chagas que concluye que, si las viviendas son antiguas, desordenadas y con condiciones precarias puede incrementar la probabilidad que tengan exuvias y rastros de deyecciones que las viviendas nuevas o limpias. En este reporte se observa que, en general, las condiciones intradomiciliares son similares entre las viviendas con la presencia del vector y las que no hubo

capturas, aunque se hayan evidenciado deyecciones del vector en paredes y hasta algunas exuvias; por lo cual se puede concluir que las condiciones de las viviendas de la aldea Chuchuapa son favorables para la presencia del vector a pesar de no capturarlo.

Con respecto a las características intradomiciliares de las viviendas, estas presentaron condiciones que en estudios tanto en Guatemala como en Colombia, se han asociado a la presencia o al incremento de la prevalencia del vector, como techo de lámina, paredes de bajareque, piso de tierra, ausencia de medidas protectoras y afiches, presencia de animales de corral y domésticos, la convivencia con ellos durante el día y materiales acumulados en el intradomicilio de manera desordenada o desorganizada (Bustamante et al., 2015; Quirós-Gómez et al., 2017; Salvatella, 2016). Pero especial atención debe ponerse en los casos de viviendas con paredes no repelladas, hechas de bajareque con afiches y desorganizadas, lo que se ha reportado que produce un incremento probable de la presencia de *T. dimidiata* (Bustamante et al., 2014; Bustamante et al., 2009; 2015; Quirós-Gómez et al., 2017; Salvatella, 2016; Sandoval-Ruiz et al., 2014). Las condiciones de las viviendas de la aldea Chuchuapa concuerdan con las encontradas en el Chaco paraguayo caracterizadas por la falta de limitación entre el área silvestre y las viviendas, resaltando la acumulación de leña (Sánchez et al., 2016) como el material predominante.

Las características peridomiciliares de las viviendas de la aldea estudiada concuerdan con las descritas por Hashimoto y colaboradores (2012) en Guatemala, quienes mencionan que a nivel peridomicilio los corrales de aves, gallineros y criaderos de animales domésticos localizados aproximadamente de 2 a 30 m de la vivienda fueron determinantes para encontrar el vector; reportes similares se han tenido en varios estudios con relación a este tipo de condiciones peridomiciliares (Bustamante et al., 2009, 2015; De León, 1997, Gurgel-Gonçalves et al., 2010; De Urioste-Stone et al., 2015; Quirós-Gómez et al., 2017) y que han sido asociadas al incremento probable de la presencia del vector (Calvillo et al., 2014; Dumonteil et al., 2013).

En un estudio reciente, se reportaron para dos aldeas del departamento de Jutiapa índices de infestación elevados (entre 25 y 35%), asociados a factores intradomiciliares similares a los encontrados en este estudio (paredes de adobe y bajareque, animales intradomiciliares y piso de tierra), por lo que el índice de infestación de 6.71% encontrado en este reporte, si bien es importante, se mantiene entre el rango esperado como de baja infestación, pero las condiciones de las

viviendas son un riesgo aún latente que podría contribuir al aumento del índice de infestación (Penados et al., 2020). Investigaciones realizadas en el municipio de Comapa, departamento de Jutiapa, han demostrado la reducción de la infestación domiciliar por triatominos aplicando estrategias de control que conllevan mejoras a las viviendas y una activa participación comunitaria (Castro-Arroyave et al., 2020).

El índice de infestación de *T. dimidiata* en las viviendas, así como el índice de infección por *T. cruzi* que presentan los triatominos, las paredes de las viviendas agrietadas y fisuradas, la falta de métodos para contrarrestar la propagación del vector como repellar las paredes y mejorar la infraestructura de las viviendas, así como las condiciones de las viviendas tanto intra como peridomiciliarmente, el acúmulo de materiales dentro y fuera de las viviendas, representan un alto riesgo para la transmisión de la enfermedad de Chagas entre los habitantes de la aldea Chuchuapa, municipio de Santa María Ixhuatán.

Referencias

- Bustamante, D. M., De Urioste-Stone, S. M., Juárez, J.G., & Pennington, P. M. (2014). Ecological, social and biological risk factors for continued *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma dimidiata* in Guatemala. *PLoS ONE*, 9(8), Article e104599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104599>
- Bustamante, D. M., Hernández, M. M., Torres, N., Zúñiga, C., Sosa, W., Abrego V., & Monroy, M. C. (2015). Information to act: Household characteristics are predictors of domestic infestation with the Chagas vector *Triatoma dimidiata* in Central America. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(1), 97-107. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0596>
- Bustamante, D. M., Monroy, C., Pineda, S., Rodas, A., Castro, X., Ayala, V., Quiñonez, J., Moguel, B., & Trampe, R. (2009). Risk factors for intradomiciliary infestation by the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata* in Jutiapa, Guatemala. *Cadernos de Saúde Pública*, 25(Suppl 1), S83-S92. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300008>
- Cahan, S. H., Orantes, L. C., Wallin, K. F., Hanley, J. P., Rizzo, D. M., Stevens, L., Dorn, P. L., Rodas,

- A., & Monroy, C. (2019). Residual survival and local dispersal drive reinfestation by *Triatoma dimidiata* following insecticide application in Guatemala. *Infection, Generics and Evolution*, 74. 104000. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104000>
- Calvillo, M. J., López, M. R., & Rivera, M. E. (2014). *Prevalencia de la enfermedad de Chagas en niños de 7 a 14 años en el municipio de Olopa, departamento de Chiquimula, Guatemala* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. http://www.repositorio.usac.edu.gt/2120/1/06_3685.pdf
- Castro-Arroyave, D., Monroy, M. C., & Irurita, M. I. (2020). Integrated vector control of Chagas disease in Guatemala: A case of social innovation in health. *Infectious Diseases of Poverty*, 9, 25. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00639-w>,
- Chávez, E. (2020). Evolución de la enfermedad de Chagas e infestación con triatominos en Chiquimula, Guatemala, 2000-2018. *Revista Médica (Colegio de Médicos y Cirujanos de Guatemala)*, 159(2), 85-90. <https://doi.org/10.36109/rmg.v159i2.254>
- Cortés, L. A., & Suárez, H. A. (2005). Triatominos (Reduviidae: Triatominae) en un foco de enfermedad de Chagas en Talaigua Nuevo (Bolívar, Colombia). *Biomedica*, 25(4), 568-574. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i4.1383>
- De León, M. P. (1997). *Estudio clínico, serológico y epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Santa María Ixhuatán, Santa Rosa* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_1845.pdf
- De Urioste-Stone, S. M., Pennington, P. M., Pellecer, E., Aguilar, T. M., Samayoa, G., Perdomo, H. D., Enríquez, H., & Juárez, J. G. (2015). Development of a community-based intervention for the control of Chagas disease based on peridomestic animal management: an eco-bio-social perspective. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 109(2), 159-167. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru202>
- Dumonteil, E., Nouvellet, P., Rosecrans, K., Ramírez-Sierra, M. J., Gamboa-León, R., Cruz.Chang, V., Rosado-Vallado, M., & Gourbière, S. (2013). Eco-bio-social determinants for house infestation by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(9), Article e2466. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002466>
- Gurgel-Gonçalves, R., Alves, F., Pereira, I., & Cavalcante, R. R. (2010). Distribución geográfica, infestación domiciliar e infección natural de triatóminos (Hemiptera: Reduviidae) en el Estado de Piauí, Brasil, 2008. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1(4), 57-64. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232010000400009>
- Hashimoto, K., Álvarez, H., Nakagawa, J., Juárez, J., Monroy, C., Córdón C., & Gil, E. (2012). Vector control intervention towards interruption of transmission of Chagas disease by *Rhodnius prolixus*, main vector in Guatemala. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(7), 877-887. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000700007>
- Juárez, J. G., Pennington, P. M., Bryan, J. P., Klein, R. E., Beard, C. B., Berganza, E., Rizzo, N., & Cordon-Rosales, C. (2018). A decade of vector control activities: Progress and limitations of Chagas disease prevention in a region of Guatemala with persistent *Triatoma dimidiata* infestation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(11), Article e0006896. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006896>
- Lima-Cordón, R. A., Stevens, L., Solórzano Ortíz, E., Rodas, G. A., Castellanos, S., Rodas, A., Concepción, V., & Monroy, M. A. (2018). Implementation science: Epidemiology and feeding profiles of the Chagas vector *Triatoma dimidiata* prior to Ecohealth intervention for three locations in Central America. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(11), Article e0006952. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006952>
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2015). *Informe anual de situación de enfermedades transmisibles y no transmisibles prioritarias de vigilancia epidemiológica*. 52-55. <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/publicaciones%202017/Desarrollo/,PRIORIDADES DE VIGILANCIA EPI 1del.pdf>
- Monroy, C., Rodas, A., Mejía, M., Rosales R., & Tabaru Y. (2003). Epidemiology of Chagas disease in Guatemala: Infection rate of *Triatoma*

- dimidiata*, *Triatoma nitida* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) with *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(3), 305-310. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000300003>
- Organización Mundial de la Salud. (2018a). *Chagas disease (american trypanosomiasis), epidemiology*. <http://www.who.int/chagas/epidemiology/>
- Organización Mundial de la Salud. (2018b). *La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana)*. [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Quirós-Gómez, O., Jaramillo, N., Angulo, V., & Parra-Henao, G. (2017). *Triatoma dimidiata* en Colombia; distribución, ecología e importancia epidemiológica. *Biomédica*, 37(2), 274-285. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.2893>
- Penados, D., Pineda, J., Catalan, M., Avila, M., Stevens, L., Agreda, E., & Monroy, C. (2020). Infestation dynamics of *Triatoma dimidiata* in highly deforested tropical dry forest regions of Guatemala. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 115, Article e200203. <https://doi.org/10.1590/0074-02760200203>
- Peterson, J. K., Hashimoto, K., Yoshioka, K., Dorn, P. L., Gottdenker, N. L., Caranci, A., Stevens, L., Saldaña, A., Rodriguez, S., & Monroy, C. (2019). Chagas disease in Central America: Recent findings and current challenges in vector ecology and control. *Current Tropical Medicine Reports*, 6(2), 76-91. <https://doi.org/10.1007/s40475-019-00175-0>
- Peterson, J. K., Yoshika, K., Hashimoto, K., Caranci, A., Gottdenker, N., Montroy, C., Saldaña, A., Rodriguez, S., Dorn, P., Zúñiga, C. (2019). Chagas disease epidemiology in Central America: An update. *Current Tropical Medicine Reports*, 6(2), 92-105. <https://doi.org/10.1007/s40475-019-00176-z>
- Salvatella, R. (2016). Chagas en Uruguay, 1937-2016 Información básica para su prevención, control y atención. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 87(1), 49-52
- Sánchez, Z., Russomando, G., Chena, L., Nara, E., Cardozo, E., Paredes, B., & Ferreira, E. (2016). *Triatoma sordida*: indicadores de adaptación y transmisión de *Trypanosoma cruzi* en intradomicilio del Chanco Paraguayo. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 14(3), 96-101. [https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2016.014\(03\)96-101](https://doi.org/10.18004/Mem.iics/1812-9528/2016.014(03)96-101)
- Sandoval-Ruiz, C. A., Guevara, R., & Ibáñez-Bernal, S. (2014). Household risk factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata*, the Chagas disease vector in Central Region of Veracruz, Mexico. *Salud Pública de México*, 56(2), 213-220
- Stevens, L., Monroy, M. C., Rodas, A. G., Hicks, R. M., Lucero, D. E., Lyons L. A., & Dorn, P. L. (2015). Migration and gene flow among domestic populations of the Chagas insect vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) detected by microsatellite loci. *Journal of Medical Entomology*, 52(3), 419-428. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv002>

Instrucciones para autores

Ciencia, Tecnología y Salud es la Revista de Investigación y Postgrado de la Universidad de San Carlos de Guatemala, orientada a divulgar los conocimientos de las áreas científicas, tecnológicas y de la salud humana y animal a la comunidad científica nacional e internacional. Constituye una publicación de carácter semestral no lucrativa en formato digital (Open Journal System-OJS) y en forma impresa, cuyos manuscritos, aceptados para publicación son sometidos a procesos de revisión y arbitraje por pares ciegos y externos, lo que garantiza al lector y autores un alto nivel y rigor académico.

Instrucciones generales (lea detenidamente todas las instrucciones para autor)

1. La Revista publica los siguientes tipos de manuscritos:
 - a. Artículos científicos
 - b. Artículos de revisión
 - c. Ensayos
 - d. Reseñas
 - e. Reporte de casos
 - f. Comunicaciones cortas
 - g. Conferencias de congresos científicos
 - h. Resúmenes de congreso
2. La revista presta consideración editorial a artículos originales inéditos en idioma español e inglés. Si el material a publicar ha sido presentado en forma parcial en algún Congreso Científico, indíquelo al final del resumen o en carta al editor.
3. Para enviar un manuscrito regístrate como autor en la plataforma OJS, (sección registrarse), los artículos incompletos que no cumplan las Instrucciones para Autores, serán devueltos sin evaluación.
4. Todos los trabajos deben presentarse en formato MS Word (versión 2007) o formato LaTeX (por medio de la plantilla que puede descargar en <https://github.com/hepfpeh/cts-DIGI>). Tamaño carta, letra Times New Roman 12 puntos, interlineado de 1.5, márgenes de 2.5 cm, a una columna, sin justificar, páginas numeradas y las citas y referencias de acuerdo al Manual de Publicaciones de la *American Psychological Association* (APA) 7a. edición. El sistema de medidas utilizado debe ser el sistema métrico decimal y las palabras en otro idioma deben aparecer en cursiva, excepto las abreviaturas comunes en el idioma en que se escribe (et al., per se, a priori, etc.)
5. Todos los trabajos deben incluir una portadilla, donde se consigne el título corto (no mayor a 11 palabras), título en español e inglés, los nombres de los autores (nombre, apellido), su afiliación institucional (utilizar números arábigos en superíndice) y dirección electrónica para enviar correspondencia (se indicará al autor con un asterisco).
6. Los manuscritos que informen investigaciones con seres humanos o animales, deben incluir una sección de Aspectos

Éticos del trabajo, incluyendo la aprobación por un Comité de Ética cuando corresponda, el consentimiento informado en caso de estudios con seres humanos y los procedimientos utilizados para el manejo ético de animales de laboratorio.

7. Las tablas, figuras e imágenes, deben ser enviadas en archivos separados (archivos complementarios OJS) y en el formato original utilizado (Ej. .doc, .docx, .xls, .xlsx, .png, .jpg, TIFF). Las imágenes en colores, deben tener un mínimo de 300 dpi de resolución. Para el caso de mapas, se debe colocar los créditos, sistema de coordenadas y escala.

Instrucciones específicas:

Se recomienda a los autores revisar un número anterior de la revista para visualizar el contenido del artículo previo a su envío.

1. Artículo científico

Son artículos que informan sobre resultados de proyectos de investigación. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: Objetivos, metodología, resultados más relevantes y conclusión. No más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract (inglés): Objetivos, metodología, resultados más relevantes y conclusión. No más de 250 palabras, incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Métodos
- e. Resultados
- f. Discusión
- g. Agradecimientos (incluir fuente y número de financiamiento)
- h. Referencias (Normas APA)
- i. Tablas y Figuras (Normas APA)

2. Artículos de revisión

Los artículos de revisión presentan temas de importancia tratados por expertos y únicamente se aceptan por invitación del Consejo Editorial. La extensión máxima es de 20 páginas y deben incluir lo siguiente:



- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract (inglés): incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Contenido
- e. Conclusiones
- f. Referencias (mínimo 50 referencias)
- g. Tablas y Figuras (Normas APA)

3. Ensayos

Los ensayos son trabajos en que el autor aborda su interpretación de un tema relevante a la ciencia, la tecnología o la salud. Plantea argumentos y opiniones personales basados en literatura científica, concluyendo con una posición sobre el tema seleccionado. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract
- c. Introducción
- d. Contenido
- e. Conclusiones
- f. Referencias (Normas APA)

4. Reseñas

Las reseñas son revisiones y comentarios sobre nuevos libros (con ISBN), videos u otras obras. Su extensión máxima es de dos páginas y su formato es libre. Debe incluir la referencia bibliográfica completa, fotografía de la obra y dirección electrónica cuando aplique.

5. Reporte de casos

Estos artículos presentan en forma detallada y documentada casos especiales que merezcan la atención del ámbito de la revista. Pueden ser casos clínicos, tecnológicos o de otros campos de la ciencia. La extensión máxima es de 10 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract: incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Presentación del caso
- e. Discusión
- f. Referencias (Normas APA)
- g. Tablas y Figuras (Normas APA)

6. Comunicaciones cortas

Estos artículos presentan datos de interés sobre un estudio limitado o resultados preliminares de una investigación de impacto. Los artículos breves incluyen (pero no se limitan): desarrollo de nuevos materiales, experimentos y teoría de vanguardia, novedad en simulación y modela-

ción, elucidación de mecanismos químicos. La extensión máxima es de 10 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- b. Abstract: incluir 5 keywords
- c. Introducción
- d. Métodos
- e. Resultados
- f. Discusión
- g. Agradecimientos
- h. Referencias

7. Conferencias de congresos científicos

Son conferencias presentadas en congresos o eventos científicos acordes a la temática de la revista. El Comité Organizador del congreso o evento científico hace una solicitud formal al Comité Editorial para la asignación editorial. Las conferencias son revisadas, editadas y seleccionadas por el Comité Organizador y no son evaluadas por pares. La extensión máxima es de 20 páginas e incluye lo siguiente:

- a. Portadilla
- b. Resumen: no más de 250 palabras. Incluir 5 palabras clave
- c. Abstract y keywords
- d. Introducción
- e. Contenido
- f. Conclusiones
- g. Referencias (Normas APA)

8. Resúmenes de congreso

Se publicarán ponencias orales o de poster de Congresos que así lo soliciten. Los trabajos incluyen:

- a. Título en español e inglés
- b. Nombre y afiliación de los autores
- c. Nombre del autor responsable al que se dirige la correspondencia
- d. Resumen: objetivo, metodología, resultados más relevantes y conclusión. Máximo 250 palabras, incluir 5 palabras clave.
- e. Abstract (resumen en inglés), incluir 5 keywords.
- f. Nombre del Congreso, lugar y fecha, y modo en que fue presentado (Oral o Póster)

Proceso de publicación

El proceso de publicación tiene tres etapas. La primera realizada por el Comité Editorial para revisar formato, redacción, estructura y estadística; con las observaciones se devuelve al autor para su corrección. La segunda etapa consiste en el envío a pares ciegos externos, en caso de opiniones contradictorias, se enviará a un tercer par. La última etapa consiste en la edición final (filología), diagramación y aceptación de prueba de imprenta. Los autores deberán contestar las demandas de corrección en cada etapa, en un máximo de 30 días, en caso contrario, el manuscrito se declarará rechazado y deberá comenzar el trámite de aceptación nuevamente.

Editorial

Artículos Científicos

Inhibición de las actividades proteolítica y fosfolipasa A2 del veneno de Bothrops asper por el extracto etanólico de Neurolaena lobata (L.) Cass

Patricia Saravia-Otten, Rosario Hernández, Nereida Marroquín, Gabriela García, Federico Nave, Lorena Rochac, Vicente Genovez, Max Mérida, Sully M. Cruz, Armando Cáceres, José M. Gutiérrez

Diversidad de árboles en cuatro etapas de sucesión ecológica del bosque tropical montano nuboso del altiplano occidental de Guatemala
Sergio M. Godínez

Fenología reproductiva de Prunus lundelliana Standl. (Rosaceae), un árbol en peligro de extinción con potencial para restaurar bosques nubosos de Mesoamérica

Javier A. Rivas-Romero, Jacob J. Alvarez-Requena, Vinicio Bravo-Santizo

Effect of sulfonated block copolymer on the equilibrium and thermal properties of sulfonated fluoroblock copolymer blend membrane

Edward M. A. Guerrero-Gutiérrez

Simulación de temperatura y precipitación estacional durante el período 1998-2000 en Centro América utilizando el modelo climático regional RegCM

Paris Rival, Wener Ochoa, Bayron Gonzalez

Respuesta inmunológica a varias proteínas del H. pylori en pacientes guatemaltecos

Glenda B. Tello, Vanesa I. Wannan, Andrea M. Duarte, Walter O. Guerra, Isabel E. Guerra, Ana C. Ortiz, Alfonso Zetina, Jorge Gómez, Jorge L. De León, Karla J. Lange, Vivian L. Matta

Los artículos científicos son indexados en:

latindex ROAD

DOAJ DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS

LILACS

BASE

<http://digi.usac.edu.gt/ojsrevistas>

Artículo de Revisión

Diseño, estandarización e implementación de una nueva técnica en Guatemala, para el diagnóstico rápido de hemocultivos positivos, utilizando la tecnología Maldit-tof

Juan C. Barrera-Toledo, Sergio Melgar, Edith Oregón

Susceptibilidad genética y enfermedad autoinmune reumática: Revisión narrativa

Maynor Herrera-Méndez

Reporte de Casos

Encuesta entomológica y caracterización de las viviendas con el vector de la enfermedad de Chagas, en aldea Chuchuapa, Santa Rosa, Guatemala

David A. Girón, Jimmy Saucedo, Juan Ordoñez, María Villagrán, Ángel Ojeda, María Merlos, Silvia Castro