



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
MÉRIDA-VENEZUELA



ISSN 0543-517-X
Depósito Legal pp 1958 02
ME 1003

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

FUNDADA EN 1958



"REVISTA PATRIMONIO ULA"

Volumen 66, Número 1
enero-junio 2024

EDITORIAL

Bioprospección perentoria

En el universo del reino Plantae, subyacen recursos fitogenéticos -en su mayoría intangibles- los cuales pueden ser de gran utilidad para el resto de seres vivos, incluyendo a la especie humana. Es vital la conservación de todos los ecosistemas, donde las plantas realizan su papel primordial como organismos autótrofos. Es por ello que, se requiere de los inaplazables estudios continuos de investigación y desarrollo, donde se impliquen a las diferentes ramas científicas relacionadas con la botánica. Venezuela es rica en su diversidad vegetal, y por ende, en su biodiversidad en general; sin embargo, se está haciendo poco acerca de estas necesidades investigativas señaladas, y urge plantear tales estudios con iniciativas de proyectos básicos que conlleven al conocimiento estratégico de nuestros ecosistemas o biomas, a través de las distintas exploraciones o salidas de campo. Nuestros herbarios, con su debido personal capacitado, son esenciales para la recolección, descripción e identificación taxonómica de las especies a estudiar, asimismo, se preserva in situ la fitodiversidad de las áreas o bosques estudiados, traduciéndose en resguardos o referencias científicas para estudios posteriores. La consecución de todo este planteamiento, redundaría en un desarrollo determinante que genere la formación educacional y de transformación para los investigadores noveles, como también, el fortalecimiento de los profesionales especialistas con sus instituciones incursas. De esta manera, sí podríamos alcanzar parámetros científicos equiparables con otros países, quienes hace tiempo se han abocado e invertido recursos económicos ante estos menesteres. Fundamentalmente, estudiar, experimentar y conocer nuestra flora, se traduce en buena parte, lograr comprender la sincronía de los bosques o selvas con sus especies en sus hábitats y funciones ecológicas, y así, determinar o inferir sobre la salud de tales ecosistemas, cuya sanidad ambiental también significaría buena salud para la población humana, allende a los diferentes productos naturales o farmacognósticos que se descubran a tal fin

Dr. Pablo Meléndez González

Herbario MERF

Departamento de Farmacognosia y Medicamentos

Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Vol. 66, N° 1

enero-junio 2024

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02
ME 4102

CONTENIDO

ARTÍCULOS ORIGINALES

Utilidad de la citología en la pesquisa de cáncer anal

Usefulness of cytology in screening of anal cancer.

Autores: Toro de Méndez Morelva3

Efecto del procesamiento de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) sobre sus propiedades funcionales y microestructura: potenciales usos en productos horneados.

Effect of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) processing on its functional properties and microstructure: potential use in baked goods.

Autores: Silva-Iturriza Adriana, Pérez Suhey.....12

Distribución de antimonio pentavalente y trivalente posterior a la administración de un leishmanicida experimental.

Distribution of pentavalent and trivalent antimony after administration of experimental leishmanicide.

Autores: Briceño-Páez Luisa Carolina, Petit de Peña Yaneira, Vicuña-Fernández Nelson, Guillen Juan Carlos, Vásquez Laura, Scorza-Dagert José Vicente.....23

Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Espeleptiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Phytochemical screening and antibacterial activity of the extract of the leaves of *Espeleptiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Autores: Aparicio-Zambrano Rosa, Cortez-Pérez María, Obregón-Díaz Ysbelia, Pérez-Colmenares Alida, Cordero Yndra, Salazar-Vivas José, †Rojas-Fermín Luis, Villasmil Thayded, Usubillaga Alfredo.....32

Normas Editoriales.....38

Reglamento para el Arbitraje.....39

Índice Acumulado.....41

Artículo de revisión

Utilidad de la citología en la pesquisa de cáncer anal.

Usefulness of cytology in screening of anal cancer.

Toro de Méndez Morelva.

Departamento Bioanálisis Clínico. Cátedra de Citología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. C.P. 5101. Venezuela.

Recibido: enero de 2024–Aceptado: abril de 2024

RESUMEN

La citología anal es un método de laboratorio eficaz para la pesquisa de cáncer y sus lesiones precursoras, designadas con el término citológico de Lesión Intraepitelial Escamosa (siglas en inglés SIL) e histopatológico Neoplasia Intraepitelial Anal (siglas en inglés AIN), en conjunto con la anoscopia y la biopsia. El objetivo de este artículo fue conocer la utilidad del estudio cito-morfológico en la pesquisa de cáncer anal y su lesión precursora obligatoria: AIN 3 / HSIL en poblaciones de riesgo. Se trata de una neoplasia cuya incidencia va en aumento. Aunque en la población general es más frecuente en mujeres que en hombres, existe un grupo especial de población de riesgo afectado con mayor frecuencia representado por individuos inmunosuprimidos por virus de inmunodeficiencia adquirida (HIV), con infección persistente por virus papiloma humano (siglas en inglés HPV) oncogénico (principalmente HPV16), hombres que mantienen relaciones sexuales con otros hombres (MSM), personas que son sexo ano-receptores, bisexuales, fumadores, trasplantados y mujeres con patología de cuello uterino. Sus bases patogénicas son semejantes a la del cáncer de cuello uterino, detectándose en muchos casos en estadios avanzados; contrario a dicha neoplasia, no existen lineamientos universales estandarizados de pesquisa de cáncer anal y sus lesiones precursoras, por lo que la citología anal, cuyos parámetros están bien establecidos por la clasificación citológica del Sistema Bethesda 2014, podría contribuir en la evaluación clínica inicial de la población de riesgo

para este tipo de neoplasia, a fin de establecer sus características epidemiológicas, clínico-patogénicas y cito-histológicas en esta localidad, para favorecer su detección y tratamiento oportuno, especialmente en estadio precoz, así como para el control anual y evaluar persistencia/recurrencia. Educar a la población sobre los factores de riesgo para el desarrollo de cáncer anal parece ser la mejor estrategia preventiva.

PALABRAS CLAVES

Cáncer anal, lesión intraepitelial, neoplasia intraepitelial, citología, pesquisa.

ABSTRACT

Anal cytology is an effective laboratory method for detecting cancer and its precursor lesions. It is designated by the cytological term Squamous Intraepithelial Lesion (SIL) and histopathological Anal Intraepithelial Neoplasia (AIN), in conjunction with anoscopy and biopsy. The objective of this article was to know the usefulness of cyto-morphological study in the screening of anal cancer and its obligatory precursor lesion: AIN 3 / HSIL in risk populations. It is a neoplasia whose incidence is increasing. Although in the general population, this lesion is more common in women than in men, there is a special group of population at risk affected more frequently. Such group is represented by individuals immunosuppressed by acquired immunodeficiency virus (HIV), with persistent infection by human papillomavirus

oncogenic (HPV), mainly HPV16, men who have sexual relationships with other men (MSM), people who are sex-receptive, bisexual, smokers, transplant recipients and women with cervical pathology. The pathogenic bases of the lesion are similar to that of cervical cancer, being detected in many cases in advanced stages. Contrary to this neoplasia, there are no standardized universal guidelines for screening of anal cancer and its precursor lesions. So anal cytology, whose parameters are well established by the cytological classification of the Bethesda System 2014, could contribute to the initial clinical evaluation of the disease in the population at risk for this type of neoplasia, in order to establish its epidemiological, clinical-pathogenic, and cyto-histological characteristics in this locality. Aiming to promote its detection and timely treatment, especially in the early stage, as well as for annual control and to evaluate persistence /recurrence. Educating the population about the risk factors for developing anal cancer seems to be the best preventive strategy.

KEY WORDS

Anal cancer, intraepithelial lesion, intraepithelial neoplasia, cytology, screening.

INTRODUCCIÓN

El carcinoma anal es relativamente raro en la población general, sin embargo, las cifras de morbilidad específicamente han aumentado en ciertos grupos de población considerados de riesgo para esta neoplasia, incluyendo hombres y mujeres con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (HIV), ocurre con mayor frecuencia en hombres que tienen sexo con hombres (MSM), pacientes trasplantados y con enfermedad autoinmune. Ahora se incluyen también a las mujeres que han padecido de una patología en cuello uterino como una Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 3 / CIN 3 o Lesión Intraepitelial de alto grado / HSIL, asociada a infección por virus papiloma humano / HPV oncogénico [1-3]. El conocimiento de los factores de riesgo asociados al desarrollo de la neoplasia anal permitiría priorizar

y estandarizar las medidas de prevención, diagnóstico precoz y tratamiento oportuno, especialmente de la lesión intraepitelial de alto grado, reduciendo significativamente el riesgo de cáncer anal invasor [4]. Aunque el cáncer anal de tipo epidermoide es menos común que otras neoplasias gastro-intestinales malignas, la incidencia continúa aumentando con el tiempo. Se estimó que para el año 2022, se detectaron 9.760 nuevos casos de cáncer anal en ambos sexos y ocurrieron 1.870 muertes. Cuando se separaron las cifras por sexo, se apreció que las mujeres fueron las más propensas a sufrir de esta neoplasia, con cifras de morbilidad igual a 6.580 casos y de mortalidad 1.010 casos, en comparación con los hombres, 3.180 y 860 respectivamente [3].

En contraste con el cáncer de cuello uterino, no existen programas de pesquisa bien establecidos para el cáncer anal y sus lesiones pre-malignas o precursoras conocidas con el término histopatológico de Neoplasia Intraepitelial Anal (AIN) o citológico, Lesión Intraepitelial Anal de alto grado (HSIL), las cuales son curables si se detectan y tratan a tiempo, impidiendo así su progresión a neoplasia anal invasora [4]. Actualmente, los expertos recomiendan evaluar a la población de riesgo, inicialmente, con el análisis cito-morfológico, el tacto rectal, la anoscopia de alta resolución y el test molecular para la genotipificación de HPV oncogénico [5-9]. La citología o análisis cito-morfológico es utilizado ampliamente para la pesquisa de cáncer y, especialmente, de lesiones pre-malignas a nivel de cualquier órgano corporal, del cual pueda obtener una muestra celular. Al igual que en cuello uterino, la citología anal tiene sus fundamentos y criterios morfológicos bien establecidos por el sistema Bethesda 2014 [9,10]. El objetivo de este artículo fue conocer la utilidad del estudio cito-morfológico en la pesquisa de cáncer anal y su lesión precursora obligatoria: AIN 3 / HSIL en poblaciones de riesgo

Aspectos epidemiológicos de la Neoplasia Anal

La mortalidad por carcinoma anal de células escamosas o epidermoide, tipo histológico de cáncer anal más frecuente [11], es relativamente rara en la población general, sin embargo, la

morbilidad ha ido aumentando en ciertas poblaciones consideradas de riesgo para esta neoplasia

Conocer los factores de riesgo asociados al cáncer anal permitiría priorizar a los individuos de mayor riesgo y que requieren una evaluación inmediata para la detección precoz de esta neoplasia, fundamentalmente la HSIL, mediante la estandarización de las estrategias incluidas en los programas de pesquisa y tratamiento oportuno, así como para investigación y prevención [1].

Entre la población considerada de mayor riesgo para cáncer anal se incluyen hombres y mujeres con

las respectivas siguientes características, resumidas en la Tabla 1, los individuos que viven con HIV y con infección persistente por HPV oncogénico, principalmente los genotipos virales 16 y 18, hombres que tienen sexo con hombres (MSM) especialmente jóvenes cuya edad promedio es de 28,8 años \pm 8 años, transexuales, trasplantados, fumadores y las mujeres que además han padecido de una patología en cuello uterino como una neoplasia intraepitelial cervical grado 3/HSIL [1,2,5,6,12,13].

TABLA 1.
Población de riesgo para cáncer anal.

<ul style="list-style-type: none"> -Hombres que tienen sexo con hombres (<i>MSM</i>), ≥ 35 años, ano-receptor. -Individuos <i>HIV</i> positivo / Inmunosuprimidos: trasplantados. -Individuos <i>HPV</i> oncogénico positivo persistente. -Patologías benignas: inflamación, fístulas, fisuras, hemorroides, verrugas ano-genitales. - Con masa/sangrado anal. -Fumadores. -Mujeres de mediana edad, que además tienen antecedente de patología de cuello uterino anormal: <i>HSIL / Ca</i>, que practica sexo anal.

La infección por HPV de alto riesgo oncogénico en un factor necesario, aunque insuficiente, para el desarrollo de la neoplasia invasora anal. Semejante a la carcinogénesis del cuello uterino, el desarrollo de cáncer anal está precedido por lesiones precursoras que inician con la infección persistente por cualquiera de los genotipos de HPV oncogénicos, los cuales están presentes en aproximadamente el 90% de los cánceres anales y su precursor obligatorio, la HSIL [1,8,14,15]. La carcinogénesis anal en pacientes HIV positivos ocurre debido a la persistencia del HPV oncogénico y su integración al DNA celular, favorecida por la interacción sinérgica entre dichos virus de transmisión sexual, que provocan principalmente, alteraciones en el microambiente anal y en la integridad epitelial anal. La coinfección y su bidireccionalidad influye en el efecto patogénico de ambos virus. En las células epiteliales anales, especialmente a nivel de la zona de transformación ano-rectal (ZT ano-rectal), con integración del DNA viral en el DNA celular, se produce una sobreexpresión descontrolada de los oncogenes virales HPV E6 y E7, lo cual conlleva a

la reducción de la actividad antitumoral de las principales proteínas supresoras de tumor, p53 y pRb, con la consecuente proliferación celular excesiva, sin control y el bloqueo de la apoptosis, ocasionando en el tiempo inestabilidad cromosómica, inmortalidad celular y el surgimiento de un clon celular maligno, con eventual progresión a neoplasia invasora. Estos eventos moleculares suceden en un microambiente anal dominado por los efectos en el sistema inmune, inducidos y mantenidos por proteínas del HIV, que aumentan el potencial oncogénico del HPV, al incrementar la sobreexpresión de sus oncogenes E6/E7 en otras células epiteliales infectadas, facilitando así la inducción a la transformación celular maligna [15]. Por tanto, un factor de riesgo claro para el desarrollo de cáncer anal es la coinfección de HIV y HPV oncogénico.

Actualmente, se incluyen también entre los individuos de riesgo a padecer cáncer anal, a las mujeres que tienen un historial de patología de cuello uterino asociada a cualquier HPV oncogénico, especialmente aquellas que son sexo ano-receptoras, fumadoras y promiscuas

(2,16-18]. Aunque la evaluación citológica anal es baja en pacientes con citología de cuello uterino anormal (alrededor del 5,5%), la prevención del cáncer anal podría ser apoyada con la pesquisa citológica en estas pacientes, cuya edad más frecuente es sobre los 39 años [18]. Debido a que los mismos genotipos de HPV que se detectan en cuello uterino de pacientes con HSIL o cáncer de cuello uterino pueden también detectarse en el canal anal, es de interés realizar la genotipificación viral en muestras anales de estas pacientes para así poder establecer su nivel de riesgo para cáncer anal [5,17]. La mayoría de las infecciones anales son por HPV oncogénico como el HPV 16 (entre 43,3% y 70,0%), pero también son frecuentes las causadas por HPV de bajo riesgo, especialmente HPV 6 (entre 24,5% y 45,0%), así como también la infección por más de un tipo de HPV o infección múltiple, estando presentes estos en cavidad anal (80%) e inclusive en cavidad oral [8, 16], por lo que la vigilancia periódica de estas pacientes podría evitar la morbilidad por neoplasia anal. En este sentido, inclusive, se propone la atención especial a los MSM, seropositivos para HIV, en edades comprendidas entre 18 y 26 años, sean vacunados contra el HPV para su protección y cuidado, siendo mejor antes de iniciar actividad sexual, ante el riesgo que pueda significar esta infección viral para neoplasia anal, pues el 74% de estos jóvenes podría desarrollar una Lesión Intraepitelial Anal de bajo grado (LSIL) y el 34%, una HSIL [14]. Considerando entonces las evidencias, la población de riesgo debería someterse a la pesquisa anual, de igual forma que sucede para el cáncer de cuello uterino, particularmente para la detección y tratamiento oportuno de la HSIL [9,19].

La citología para la detección precoz de la Neoplasia Anal.

La citología es una herramienta de pesquisa de cáncer y particularmente de lesiones pre-malignas que puede ser realizada en cualquier órgano del cuerpo, del cual se pueda obtener una muestra celular. Es amplia y universalmente utilizada en la pesquisa de cáncer de cuello uterino asociado a la infección persistente por HPV oncogénico, con elevada efectividad. En la pesquisa de cáncer de cuello uterino, el estudio morfológico de las células

ha sido de gran utilidad, al igual que en muchas otras neoplasias, sin embargo, en el caso del cáncer anal aún se estudia su impacto en la detección citológica precoz de la lesión pre-maligna o HSIL anal [9].

El cáncer anal está precedido por un espectro de lesiones pre-malignas que frecuentemente surgen en la ZT ano-rectal, las cuales son denominadas con el término citológico de Lesión Intraepitelial Escamosa de alto grado / HSIL, o histopatológico de Neoplasia Intraepitelial Anal / AIN [11]. La AIN grado 3 es la lesión precursora obligatoria del cáncer anal, por lo que su detección precoz y oportuno tratamiento disminuiría el desarrollo y mortalidad por la neoplasia anal maligna, especialmente en las ya mencionadas poblaciones de alto riesgo. El análisis cito-morfológico se basa en el reconocimiento microscópico de las células pre-malignas que se descaman de las HSIL [10,15,20]. El sistema Bethesda para el informe de los hallazgos citológicos del cuello uterino ha establecido también parámetros para el análisis e informe citológico de muestras celulares anales con fines de pesquisa de cáncer anal y sus lesiones precursoras [10]. Los pacientes deberán cumplir con ciertas condiciones que garantizan una correcta interpretación de los hallazgos citológicos como evitar el coito anal, no usar lubricante y vaciar el recto sin usar enemas, eliminando el exceso de restos fecales mediante aseo perianal usando agua y jabón. Además, el personal que toma la muestra citológica deberá ser consciente que debe ser del canal anal, incluyendo fundamentalmente la ZT ano-rectal y el instrumento de toma de muestra que se utilice para ello, debe tener suficiente longitud para alcanzar dicha zona anatómica sin causar sangramiento; una sugerencia es utilizar el cytobrush, mismo que se utiliza para la toma de muestra citológica del canal endocervical. La muestra citológica anal consiste en introducir el instrumento de toma de muestra disponible (evitando el uso del hisopo) 2-3 cm dentro del ano y extraerlo con un movimiento de rotación que permita obtener células representativas de todo el canal anal. Es importante evitar la distorsión celular durante la elaboración del extendido celular y realizar la fijación inmediata del material celular obtenido, lo cual proporcionará muestras adecuadas para interpretación citológica (9,21, 22).

La estructuración del formato para el informe de la citología anal consta de un apartado para la adecuación de la muestra, seguido de la

categorización general y el informe citológico propiamente dicho, el cual debe ser descriptivo [10]. Este formato se resume en la Tabla 2.

TABLA 2.

Sistema Bethesda 2014 para el informe de los hallazgos de la citología anal [10].

TIPO DE FROTIS: Indicar si es frotis convencional (Papanicolaou), en base líquida (Pap test) u otro (especificar).
ADECUACIÓN DE LA MUESTRA:
1. SATISFACTORIA: describir la presencia o ausencia de componente glandular columnar rectal o de la Zona de Transición (ZT) ano-rectal (metaplasia escamosa). Cualquier otro elemento limitante: obscurecimiento por materia fecal, sangre, inflamación, artefactos: lubricante, etc.
2. INSATISFACTORIA: especificar el motivo: Muestra rechazada/ no procesada por...; Muestra procesada y examinada pero no informada por... Motivos: contaminación excesiva con bacterias o materia fecal, acelular, hipocelular o sólo compuesta por células escamosas anucleadas, excesiva sangre y/o inflamación, artefacto: lubricante... Otro: especificar.
CATEGORIZACIÓN GENERAL (opcional):
1. Negativa para Lesión Intraepitelial o Malignidad. 2. Anormalidades en Células Epiteliales Escamosas y/o Glandulares.
INTERPRETACIÓN / RESULTADO:
1. Negativa para Lesión Intraepitelial o Malignidad: cuando no existe ninguna evidencia morfológica de neoplasia. Incluye las células escamosas nucleadas bien preservadas y glandulares columnares rectales normales. También los elementos no epiteliales (sanguíneos/inflamatorios), así como la presencia de organismos patógenos y otros hallazgos no neoplásicos (cambios celulares reactivos benignos degenerativos, inflamatorios. Células metaplásicas y células queratóticas: hiper/paraqueratosis).
1.1- ORGANISMOS: Organismos fúngicos consistentes con <i>Cándida spp.</i> Cambios celulares consistentes con infección por <i>Virus del herpes simple tipo 2.</i> Amibas (quistes/trofozoitos). <i>Enterobius vermicularis.</i> Otros: especificar.
1.2. HALLAZGOS NO NEOPLÁSICOS: Metaplasia escamosa. Cambios queratóticos (hiper y paraqueratosis). CAMBIOS CELULARES REACTIVOS ASOCIADOS A: Inflamación. Degenerativos. Reparativos.
2. Anormalidades en Células Epiteliales: ver Interpretación/Resultado (especificar si es en células Escamosas o en Glandulares).
2.1. EN CÉLULAS ESCAMOSAS:
2.1.1. CÉLULAS ESCAMOSAS CON ATIPIAS: - De significado indeterminado (<i>ASC-US</i>). - Que no excluyen una lesión Intraepitelial de alto grado (<i>ASC-H</i>).
2.1.2. LESIÓN INTRAEPITELIAL ESCAMOSA (<i>SIL / LIE</i>): - de bajo grado (<i>LSIL / LIEBG</i>): incluye la infección por VPH y la displasia leve ó NIA1). - de alto grado (<i>HSIL / LIEAG</i>): incluye la displasia moderada/NIA2 y la displasia severa/NIA3-Carcinoma <i>in situ</i>).
2.1.3. Carcinoma de células escamosas ó Carcinoma Epidermoide.
2.2. EN CÉLULAS GLANDULARES: aún sin definir, pero se puede sugerir:
2.2.1. Alteraciones morfológicas sugestivas de Displasia. 2.2.2. Adenocarcinoma anal. 2.2.3. Enfermedad de Paget con extensión anal. 2.2.4. Posible Adenocarcinoma rectal. 2.2.5. Neoplasia metastásica.
3. NOTAS EDUCATIVAS O SUGERENCIAS (opcional): las sugerencias deben ser concisas y consistentes con los lineamientos de seguimiento publicados por las organizaciones internacionales (pueden incluirse referencias de publicación reciente). Repetir muestra por ser insatisfactoria, especialmente en paciente de riesgo. Control post-tratamiento para reevaluar morfología celular...
4. PRUEBAS AUXILIARES / Biomarcadores: Proporcionar una descripción breve del método utilizado.
5. INTERPRETACIÓN CITOLÓGICA ASISTIDA CON REVISIÓN AUTOMATIZADA: informar si la muestra fue examinada con un equipo automatizado. Especificar.

Al igual que para la pesquisa de cáncer de cuello uterino, las muestras celulares anales deben cumplir con ciertos parámetros de adecuación que garanticen un resultado lo más certero posible. Una muestra citológica anal deberá contener un mínimo

de celularidad que dependerá del tipo de muestra; si ésta es obtenida de forma convencional dicho material celular deberá estar bien preservado y ser visible, con aproximadamente entre 2.000 y 3.000 células escamosas nucleadas y presencia de

celularidad glandular columnar rectal y/o células metaplásicas, que garantiza que la zona de transformación ano-rectal fue muestreada. No deben existir elementos que oscurezcan el material celular como excesivo material fecal, bacterias, sangre y/o inflamación, tampoco deberán ser hipocelulares o acelulares [10]. Un aspecto de interés en la citología anal es el porcentaje de muestras inadecuadas para estudio citológico anal que puede alcanzar cifras entre 4% y 10% [5, 23], causando desaliento tanto en el clínico como en el paciente, considerando además, que una citología insatisfactoria no necesariamente es negativa para neoplasia anal, especialmente en individuos con factores de riesgo y con edad promedio de 45 años, quienes podrían presentar una lesión clínicamente significativa a los dos siguientes años, hasta en un 68% [9,23,24]. Las causas de estas muestras citológicas anales insatisfactorias tienen que ver principalmente con un error de muestra, debido a la falta de una mayor habilidad en la técnica de toma de muestra, al tipo de instrumento utilizado, así como debido a factores que interfieren en la correcta visualización y evaluación morfológica del material celular [9, 24]. Por ello, se sugiere establecer algoritmos de manejo clínico estrictos para los casos con citología anal insatisfactoria, a fin de descartar la existencia de una lesión oculta de interés clínico.

Dependiendo de la morfología celular, las citologías anales pueden incluirse en la categorización general negativo para lesión intraepitelial, que incluye los procesos infecciosos y los cambios reactivos benignos, o en la categoría anormalidades en células epiteliales escamosas y/o glandulares (ver Tabla 2). La lesión intraepitelial escamosa de alto grado / HSIL (AIN 3) se incluye dentro de la subcategorización: anormalidades en células epiteliales escamosas. También se incluye en esta subcategorización, el cuadro citológico de cáncer anal invasor, frecuentemente epidermoide o de células escamosas. En relación a la HSIL, lesión precursora obligatoria para el cáncer anal invasor, es imperioso mejorar su reconocimiento morfológico, pues tiende a ser subestimada cuando se correlaciona con el estudio histopatológico. En este sentido, se ha demostrado que las deficiencias en la correlación cito-histológica en las HSIL ocurre debido básicamente a la presencia de pocas

células anormales y también al pequeño tamaño que exhiben las células que descaman de las lesiones queratinizantes, por lo que es necesario un análisis cito-morfológico cuidadoso aunado a una muestra celular de calidad, que garantizaría la detección eficaz de la neoplasia anal pre-maligna [9,20]. La otra subcategorización y correspondiente a las anormalidades en células epiteliales anales de origen glandular, aún está por definirse, como sucedió con su contraparte en cuello uterino. Por lo que se requiere de más investigaciones para mejorar este aspecto citológico [9].

Estrategias actuales para la prevención, diagnóstico precoz y tratamiento oportuno de la Neoplasia Anal.

La prevención del cáncer anal tiene dos puntos críticos, según señalan Macedo y cols 2023 [25]; primero, la tasa de incidencia de este cáncer es mayor en algunos grupos de población y en segundo lugar, aún no existen pautas bien definidas para la pesquisa de cáncer anal. Debido a la íntima relación existente entre la infección por HPV oncogénico y la infección por HIV en la población especial de riesgo, ahora se proponen estrategias para inclusive detectar lesiones anales ocultas, al igual que en el diagnóstico definitivo de lesiones clínicamente significativas (HSIL) en cuello uterino [26-28]. Entre éstas, complementar el análisis citológico anal con la genotipificación y carga viral de HPV (cotesting) y realizar la tinción dual inmuno-citoquímica para p16INK4a/Ki67, y así confirmar, mediante la sobreexpresión de estos biomarcadores celulares, la transformación celular inducida por un HPV oncogénico, siendo de especial aplicación en la evaluación inicial de los casos citológicos con atipias que no descartan una lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H) o aquellos consistente con HSIL, así como el análisis de alteraciones epigenéticas frecuentes como la metilación del DNA (marcador de regresión tumoral), entre otros y aplicar el algoritmo apropiado de manejo y cuidado del paciente oportuno [8,25,29-32].

Finalmente, la prevención, detección precoz y tratamiento oportuno del cáncer anal y especialmente la HSIL, constituyen la base de la reducción de la morbilidad por este tipo de

neoplasia, en la población de riesgo. En este sentido, el estudio The Anal Cancer/HSIL Outcomes (ANCHOR), que incluyó 4.446 pacientes con HIV, estableció que el tratamiento de las lesiones displásicas (HSIL) fue muy eficaz para reducir las tasas de cáncer escamoso invasivo [19].

CONCLUSIONES

Aunque el cáncer anal no es una causa de mortalidad importante, la morbilidad está aumentando especialmente en la población de riesgo. La principal estrategia de prevención es educar a la población general sobre el conocimiento de los factores de riesgo para esta neoplasia. La pesquisa de cáncer anal y sus lesiones precursoras (HSIL) podría iniciar con el análisis citológico para descartar neoplasia pre-maligna o maligna, cuyo valor ha sido demostrado en otros tipos de cáncer como el de cuello uterino. En mujeres con infección por HPV oncogénico y seropositivas para HIV con historial de citología de cuello uterino anormal, es recomendable la evaluación anal para descartar una posible neoplasia.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, en la persona de la Lcda. Yasmira Sosa, por facilitar la obtención de referencias actualizadas en extenso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Clifford GM, Georges D, Shiels MS y cols. A meta-analysis of anal cancer incidence by risk group: Toward a unified anal cancer risk scale. *Int. J. Cancer.* 2021; 148:38-47. doi.org/10.1002/ijc.33185

[2] Hossain M S, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, Ooi D J, John A, Lim Y C, Kibria K M, Mohiuddin A M, Ming L C. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies.

Cancers. 2022; 14 : 1732 - 1756.

doi.org/10.3390/cancers14071732.

- [3] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer. J. Clin.* 2023; 73: 17-48. doi: 10.3322/caac.21763.
- [4] Palefsky JM, Lee JY, Jay N, Goldstone SE, Darragh TM, Dunlevy HA, Rosa-Cunha I, Arons A, Pugliese JC, Vena D, Sparano JA, Wilkin TJ, Bucher G, Stier EA, Tirado Gomez M, Flowers L, Barroso LF, Mitsuyasu RT, Lensing SY, Logan J, Aboulafia DM, Schouten JT, de la Ossa J, Levine R, Korman JD, Hagensee M, Atkinson TM, Einstein MH, Cracchiolo BM, Wiley D, Ellsworth GB, Brickman C, Berry-Lawhorn JM; ANCHOR Investigators Group. Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2022; 386: 2273-2282. doi: 10.1056/NEJMoa2201048.
- [5] Gaisa MM, Sigel KM, Deshmukh AA, Lenskaya V, Chan CA, Silvera R, Winters J, Liu Y. Comparing Anal Cancer Screening Algorithms Using Cytology and Human Papillomavirus DNA Testing in 3 High-Risk Populations. *J. Infect. Dis.* 2021; 224: 881-888. doi: 10.1093/infdis/jiaa801
- [6] Fernández Isart M, Serra Esteban J, Segura Sampedro JJ, Amengual Antich I, Martínez Ortega MA, Forteza Balades A, Riera Jaume M, González Argente X. Anal intraepithelial neoplasia screening in patients with human immunodeficiency virus infection. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2022; 114: 713-718. doi: 10.17235/reed.2022.8489/2021.
- [7] Hillman RJ, Berry-Lawhorn JM, Ong JJ, Cuming T, Nathan M, Goldstone S, Richel O, Barroso LF, Darragh TM, Law C, Bouchard C, Stier EA, Palefsky JM, Jay N; International Anal Neoplasia Society. International Anal Neoplasia Society Guidelines for the Practice of Digital Anal Rectal Examination. *J. Low. Genit. Tract. Dis.* 2019; 23: 138-146. doi: 10.1097/LGT.0000000000000458
- [8] Torres M, Silva-Klug A, Ferrer E, Saumoy M, Trenti L, Tous S, Esteban A, Baixeras N, Catala I, Vidal A, Bravo IG, Podzamecz D, de

- Sanjose S. Detecting anal human papillomavirus infection in men who have sex with men living with HIV: implications of assay variability. *Sex. Transm. Infect.* 2023; 99: 187-190. doi: 10.1136/sextrans-2021-055303.
- [9] Hopp AM, Puzyrenko A, Giorgadze T. Comprehensive Review of Anal Cytology. *Acta Cytol.* 2023; 67: 185-194. doi: 10.1159/000528532.
- [10] Nayar R, Wilbur DC. Editors. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 2015. 3^o ed. Springer. ISBN 978-3-319-11074-5.
- [11] Liao X. A Review and Update on Epithelial Tumors of the Anal Canal. *Journal of Clinical and Translational Pathology*, 2022; 2: 149–158. doi: 10.14218/JCTP.2022.00027
- [12] Ejaz L, Mubarak M, Ali TS, Andersson S, Ekström AM. Human papillomavirus-associated anal squamous intraepithelial lesions in men who have sex with men and transgender women living with and without HIV in Karachi Pakistan: implications for screening and prevention. *BMC Infectious Diseases.* 2021; 21: 1163-1174. doi:10.1186/s12879-021-06850-w.
- [13] Compton ML, Taylor SS, Weeks AG, Weiss VL, Hogan MM, Wang H, Ely KA. Cytology and LGBT + health: establishing inclusive cancer screening programs. *J. Am. Soc. Cytopathol.* 2022; 11: 241–252. doi:10.1016/j.jasc.2022.06.003
- [14] Palefsky JM, Lensing SY, Belzer M, Lee J, Gaur AH, Mayer K, Futterman D, Stier EA, Paul ME, ChiaoEY, Reirden D, Goldstone SE, Tirado M, Cachay ER, Barroso LF, Da Costa M, Darragh TM, Rudy BJ, Wilson CM, Kahn JA. High Prevalence of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions, and Prevention Through Human Papillomavirus Vaccination, in Young Men Who Have Sex With Men Living With Human Immunodeficiency. *Virus Clin. Infect. Dis.* 2021; 73: 1388-1396. doi: 10.1093/cid/ciab434
- [15] Bushara O, Krogh K, Weinberg SE, Steven B, Leyu F, Liao SJ, Yang G-Y. Human Immunodeficiency Virus Infection Promotes Human Papillomavirus-Mediated Anal Squamous Carcinogenesis: An Immunologic and Pathobiologic Review. *Pathobiology* 2022; 89: 1–12. doi: 10.1159/000518758
- [16] Sehnal B, Zikana M, Nipcovaa M, Dusekb L, Cibulac D, Slamac J. The association among cervical, anal, and oral HPV infections in high-risk and low-risk women. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2019; 19; 4:100061. doi: 10.1016/j.eurox.2019.100061
- [17] Nasioutziki1 M, Chatzistamatiou K, Loufopoulos P-D, Vavoulidis E, Tsampazis N, Pratilas G-C, Liberis A, Karpa V, Parcharidis E, Daniilidis A, Spanos K, Dinas K. Cervical, anal and oral HPV detection and HPV type concordance among women referred for colposcopy. *Infectious Agents and Cancer.* 2020; 15: 22-30. doi:10.1186/s13027-020-00287-7
- [18] Inthasorn P, Wetpithayakom N, Laiwejpithaya S, Lohsiriwat V, Jaishuen A, Viriyapak V. Prevalence of Abnormal Anal Cytology in Women with Abnormal Cervical Cytology. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2022, 2165-2169. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.7.2165.
- [19] Lee JY, Lensing SY, Berry-Lawhorn M, Jay N, Darragh TM, Goldstone SE, Wilkin TJ, Stier EA, Einstein M, Pugliese JC, Palefsky JM. The ANCHOR Investigators. Design of the ANAl Cancer/HSIL Outcomes Research study (ANCHOR study): A randomized study to prevent anal cancer among persons living with HIV. *Contemporary Clinical Trials.* 2022; 113: 106679.
- [20] Patel AP, Schatz-Siemers NF, Dilcher TL, Goyal A. The interpretation of high-grade squamous intraepithelial lesion on anal cytology: a comparative analysis with the cervical Papanicolaou test. *J. Am. Soc. Cytopathol.* 2020; 9: 540-549. doi: 10.1016/j.jasc.2020.07.132
- [21] Lyons KM, Butler SL. Anal Intraepithelial Neoplasia from a Pathologists Point of View. *Clin. Colon. Rectal. Surg.* 2018; 31: 328-335. doi: 10.1055/s-0038-1668102
- [22] Ortiz-Bautista RJ, Méndez-Cano VH.

- Tamizaje por citología de lesiones preneoplásicas del conducto anal. *Patología* 2018; 56: 303-309
- [23] Khattab R, McMeekin E, Taeye AJ, Hekman JM, Brainard JA, Underwood D, Procop GW, Sturgis CD. Unsatisfactory exfoliative anal cytology samples, 15-year experience with histologic, cytologic, and molecular follow-up. *Diagn. Cytopathol.* 2018; 46: 117-121. doi: 10.1002/dc.23858
- [24] Morency EG, Harbert T, Fatima N, Samolczyk J, Maniar KP, Nayar R. Anal Cytology: Institutional Statistics, Correlation With Histology, and Development of Multidisciplinary Screening Program With Review of the Current Literature. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2019; 143: 23-29. doi: 10.5858/arpa.2017-0242-RA
- [25] Macedo AC, Grande AJ, Figueiredo T, Colonetti T, Gonçalves JC, Testoni E, da Rosa MI. DNA high-risk HPV, mRNA HPV and P16 tests for diagnosis of anal cancer and precursor lesions: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Medicine* 2023; 62: 102128. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102128
- [26] Burgos J, Curran A. Diagnóstico precoz de las neoplasias intraepiteliales anales asociadas con el virus del papiloma humano ¿Cuál es la mejor estrategia?. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2016; 34: 397-399
doi.org/10.1016/j.eimc.2016.07.005
- [27] Clarke MA, Deshmukh AA, Suk R, Roberts J, Gilson R, Jay N, Stier EA, Wentzensen N. A systematic review and meta-analysis of cytology and HPV-related biomarkers for anal cancer screening among different risk groups. *Int. J. Cancer.* 2022; 151: 1889-1901. doi: 10.1002/ijc.34199.
- [28] Muñoz-Rodríguez J, Millán-Revilla L. The role of nurses in the prevention of anal cancer in HIV-infected men having sex with men - a focus on papillomavirus vaccination and anal cytology screening. *AIDS Rev.* 2022; 24: 162-165. doi: 10.24875/AIDSRev.M22000053.
- [29] Wentzensen N, Follansbee S, Borgonovo S, Tokugawa D, Schwartz L, Lorey TS, Sahasrabudhe VV, Lamere B, Gage JC, Fetterman B, Darragh TM, Castle PE. Human papillomavirus genotyping, human papillomavirus mRNA expression, and p16/Ki-67 cytology to detect anal cancer precursors in HIV-infected MSM. *AIDS* 2012; 26:2185-2192.
- [30] Toro de Méndez M, Ferrández Izquierdo A, Llombart-Bosch A. Tinción dual inmunocitoquímica de p16INKa/Ki-67 para la detección de lesiones del cuello uterino asociadas a infección por el virus del papiloma humano. *Invest. Clin.* 2014; 55: 238-248.
- [31] Dias Gonçalves Lima F, van der Zee RP, Dick S. DNA Methylation Analysis to predict Regression of high-grade anal Intraepithelial Neoplasia in HIV+ men (MARINE): a cohort study protocol. *BMJ Open* 2022;12:e060301. doi:10.1136/bmjopen-2021-060301
- [32] Liu Y, Sigel KM, Westra W, Gitman MR, Zheng W, Gaisa MM. HIV-Infected Patients With Anal Cancer Precursors: Clinicopathological Characteristics and Human Papillomavirus Subtype Distribution. *Dis. Colon Rectum.* 2020; 63(7): 890-896. doi: 10.1097/DCR.0000000000001671

Morelva Toro de Méndez: Licenciada en Bioanálisis egresada de la Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. Especialista en Citología Ginecológica y Mamaria, Consejo de Estudios de Post-grado, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. Doctora en Patología de los Tumores Humanos por la Universidad de Valencia, España. Profesora Titular Cátedra de Citología de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Coordinadora del “Grupo de Investigaciones Citológicas”, CDCHTA, Universidad de Los Andes. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7352-7397>

Artículo original

Efecto del procesamiento de la yuca (*Manihot esculenta* Cranz) sobre sus propiedades funcionales y microestructura: potenciales usos en productos horneados.

Effect of cassava (*Manihot esculenta* Cranz) processing on its functional properties and microstructure: potential use in baked goods.

Silva-Iturriza Adriana^{1,2}, Pérez Suhey^{3*}.

¹Laboratorio de Ecología Transdisciplinaria para el Bienestar Humano. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Carretera Panamericana Km 11, Caracas 1020A, Venezuela. ²Laboratorio de Análisis de Alimentos. Universidad Simón Bolívar, Sartenejas, Caracas 89000, Venezuela. ³Departamento de Química. Universidad Metropolitana, Petare, Caracas 1073, Venezuela.

Recibido: febrero de 2024–Aceptado: mayo de 2024

RESUMEN

La yuca (*Manihot esculenta* Cranz) es el tubérculo de mayor producción en Venezuela. En este trabajo se obtuvieron harinas a partir del tubérculo sometido a cuatro tipos de procesamientos (H1: deshidratación directa, H2: fermentación, H3: fermentación-cocción, H4: cocción), posteriormente se evaluaron sus propiedades funcionales y microestructura. Finalmente, se formularon panes y evaluaron los prototipos instrumentalmente por análisis de perfil de textura (APT) y sensorialmente por perfil rápido (“Flash Profile”). Los gránulos de almidón de las harinas libres de tratamiento térmico (H1 y H2) mantuvieron la forma esférica, estas harinas presentaron capacidad de formación de espuma y actividad de emulsión (por debajo del 5%). H1 y H2 presentaron la mayor concentración mínima de gelificación (30%), seguidas por H4 y H3 (16% y 10% respectivamente). La evaluación sensorial mostró una mayor cantidad de atributos sensoriales deseados en el pan formulado con H1, por lo que se seleccionó esta harina para mejorar el pan, modificando la cantidad de emulsificante en la

receta. El APT coincidió con lo obtenido sensorialmente. Sin embargo, al variar la cantidad de emulsificante, el APT no logró discriminar entre los panes formulados con 3,3% y 6,5% de emulsificante, mientras que la metodología sensorial de perfil rápido sí. En conclusión, la harina H1 mostró gran potencial para la formulación de panes libres de gluten.

PALABRAS CLAVES

Manihot esculenta, harina, propiedades funcionales, microestructura, pan, perfil rápido.

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Cranz) is the tuber with the highest production in Venezuela. In this work, flours were obtained from the tuber subjected to four types of processing (H1: direct dehydration, H2: fermentation, H3: fermentation-cooking, H4: cooking), subsequently their functional and microstructure properties were evaluated. Finally, breads were formulated and the prototypes were evaluated instrumentally by texture profile analysis (TPA) and sensorially by

Flash Profile. The starch granules of flours without heat treatment (H1 and H2) maintained their spherical shape. These flours had foaming and emulsifying capacity below 5%. H1 and H2 presented the highest minimum gelation concentration (30%), followed by H4 and H3 (16% and 10% respectively). The sensory evaluation showed a greater amount of desired sensory attributes in the bread formulated with H1, so this flour was selected to improve the bread, modifying the amount of emulsifier in the recipe. The APT coincided with what was obtained sensorially. However, by varying the amount of emulsifier, the APT was unable to discriminate between breads formulated with 3.3% and 6.5% emulsifier, while the flash profile methodology was. In conclusion, H1 flour showed great potential for the formulation of gluten-free breads.

KEY WORDS

Manihot esculenta, flour, functional properties, microstructure, bread, Flash Profile.

INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz), es un tubérculo originario de Suramérica, cuyo cultivo se ha expandido a nivel mundial. A nivel nutricional, la raíz de la yuca se compone en un 61% de agua, 35% almidones, de 1 a 2% proteínas, 0,3% grasa, de 1 a 2% fibra y 1% minerales [1]. Este rubro es apreciado por los agricultores por su tolerancia a la sequía y a suelos infértiles, siendo el tubérculo de mayor producción en Venezuela y el tercero más importante en países tropicales [2]. En varios países productores de yuca se ha planteado la producción de harina de yuca y su posterior uso en la panificación como alternativa para fomentar y diversificar el uso de productos locales, ofreciendo a la vez un producto libre de gluten que además reduciría el gasto de divisas en la importación de trigo [3].

Diferentes estudios han desarrollado y evaluado varios tipos de harinas de yuca. El proceso más sencillo y tradicional consiste en pelar y trocear la yuca, deshidratarla y luego molerla [4]. El uso de este tipo de harina ha sido evaluado en panes

compuestos por harina de trigo y de yuca en diferentes proporciones, obteniendo resultados positivos hasta un máximo de 30% de harina de yuca en la formulación [5]. Otra manera tradicional de producir harina de yuca, es agregando un proceso fermentativo espontáneo antes de la molienda, encontrándose variaciones en el proceso de producción entre las localidades [6]. En aras de estandarizar este proceso de una manera controlada y reproducible, Padonou et al. [7] evaluaron 22 cepas de microorganismos como inóculos fermentativos, encontrando que el mejor fue *Saccharomyces cerevisiae*. Otro tipo de harina con potencial uso en la panificación, es la harina de yuca pre-cocida en agua y posteriormente deshidratada y molida [8]. A pesar de todos los esfuerzos realizados en el uso de harina de yuca como sustituto de la harina de trigo en la panificación, especialmente en países productores de yuca, aún no se ha logrado que este producto escale de forma masiva [9].

En este estudio se planteó como objetivo explorar la utilidad de la yuca como materia prima para hacer panes similares a los panes de trigo, transformando el tubérculo en cuatro tipos de harina obtenidas a través de diferentes procesamientos, se evaluaron las propiedades funcionales y de microestructura. Se formularon panes que fueron caracterizados instrumental y sensorialmente, identificando de esta manera cuál de los procesamientos aplicados sobre el tubérculo, genera la harina con mayor potencial para la formulación de panes libres de gluten y en base a rubros de producción nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima y producción de las harinas: Se obtuvieron cuatro lotes de yuca provenientes del estado Trujillo en un mercado popular de la ciudad de Caracas, los cuales fueron utilizados en la preparación de cuatro harinas. El procesamiento utilizado para obtener la harina 1 (H1), consistió en lavar, pelar y rallar la yuca, posteriormente esta fue deshidratada en un deshidratador de bandejas y por último pulverizada en una licuadora casera, mientras que las harinas 2, 3 y 4 (H2, H3, H4) tienen uno o dos tratamientos adicionales luego del

rallado de la yuca y previo a la deshidratación y pulverización. La H2 incluye un tratamiento fermentativo en una solución acuosa con levadura (2% de levadura de pan agregada a una dispersión 2:1 agua: yuca rallada), la H3 incluyó el tratamiento fermentativo y un tratamiento adicional de cocción (cocción a 100 °C por 30 min), y la H4 incluyó solo un tratamiento de cocción (en agua en ebullición por 30 min, aplicado a una dispersión 2:1 de agua: yuca rallada). Todas las harinas se almacenaron en recipientes herméticos a 4°C hasta el momento de su uso.

Propiedades funcionales de las harinas: Se determinó la capacidad de absorción de agua y de aceite, la actividad de emulsión, la capacidad de formación de espuma y la mínima concentración de gelificación. La capacidad de absorción de agua y de aceite se estimó aplicando el método de Sosulski et al. [10], se mezcló 1 g de muestra con 10 mL de agua destilada o de aceite (aceite de soya comercial marca: Corcovado®) según el caso, se mantuvo la mezcla a temperatura ambiente por 30 min, finalmente se centrifugó a 2000 x g por 30 min.

La capacidad de absorción de agua y de aceite se expresa como el porcentaje de agua o de aceite unido por gramo de muestra, medidas estimadas por diferencias de peso antes y después del procedimiento descrito.

La actividad de emulsión aceite se estimó mezclando 1 g de muestra con 10 mL de agua destilada, agregando paulatinamente y sin dejar de mezclar 10 mL de aceite, centrifugando luego la emulsión por 5 min a 2000 x g. La relación entre la altura de la capa de emulsión y la altura total de la mezcla representa el porcentaje de la actividad de emulsión [11].

La capacidad de formación de espuma se estimó aplicando el método descrito por Chandra et al. [12], se dispersó 1 g de muestra en 50 mL de agua destilada, se mantuvo en agitación por 1 min. Los resultados se expresan en porcentaje por diferencia de volúmenes antes y luego de la agitación.

Por último, para la estimación de la mínima concentración de gelificación se aplicó el método descrito por Chandra et al. [12], se prepararon dispersiones de harina en agua destilada al 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 y 30% (p/v), se calentaron dichas soluciones a 90°C por 1 hora, se

enfriaron en un baño de agua y se mantuvieron a 4°C durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se invirtieron los tubos y la menor concentración a la cual la muestra no se deslizaba, representó la mínima concentración de gelificación.

Micrografías de las harinas: Cada tipo de harina se colocó en un portamuestra con cinta adhesiva de carbono y se realizó un recubrimiento con oro. Se observaron y fotografiaron las muestras en un Microscopio Electrónico de Barrido Jeol JSM-6390 a un voltaje de aceleración de 20 kV.

Formulación de productos horneados: Se utilizó una formulación base ensayada previamente con la harina H1, cuyos ingredientes fueron: 65,6% m/m de harina; 19,8% m/m de agua destilada; 13,1% m/m de huevo; 0,5% m/m de levadura; 0,5% m/m de azúcar, 0,5% m/m de sal. La preparación consistió en batir el huevo con sal, paralelamente se disolvió el azúcar en el agua, añadiendo luego la levadura instantánea (marca: Lallemand®), el huevo batido y la harina. Se dejó reposar la masa durante 30 minutos y se horneó a 180°C por 30 min. Los panes con las otras harinas se formularon variando la cantidad de agua (desde 10,8% hasta 37,6%) según la capacidad de absorción de agua que se obtuvo en las mediciones de las propiedades funcionales. Una vez evaluados estos panes sensorial e instrumentalmente, se eligió la harina con la que se obtuvo el pan con los mejores atributos y se mejoró variando un solo ingrediente a la vez.

Análisis de Perfil de Textura (APT): Se empleó un texturómetro TA.XT plus de Stable Micro System, utilizando una sonda con geometría cilíndrica de 75 mm de diámetro (sonda P/75), a una velocidad de ensayo de 1,5 mm/s y con un grado de compresión de 40% para los panes elaborados con todas la harinas y del 20 % para los panes mejorados. El equipo registró los datos de la curva fuerza-tiempo y los parámetros que se obtienen de esta curva, como dureza, masticabilidad, gomosidad y elasticidad.

Caracterización sensorial de los productos formulados: perfil rápido: Se empleó el método de perfil rápido ("Flash Profile") para obtener atributos de las muestras para cada panelista individualmente, un total de 20 panelistas no entrenados participaron en el experimento, con edades comprendidas entre los 18 y 60 años. El

método consistió en presentar las muestras codificadas junto con una planilla de evaluación y se le explicó al panelista que debía observar, oler, tocar y probar las muestras, generando atributos sensoriales de diferencia, luego se ordenaron el conjunto de muestras de menor a mayor intensidad para cada atributo, se permitió empates entre muestras [13].

Análisis estadístico: Se aplicó un análisis de varianza unifactorial (ANOVA) con la prueba Tukey HSD para evaluar posibles diferencias significativas entre las harinas con respecto a la capacidad de absorción de agua y de aceite, la actividad de emulsión y la capacidad de formación de espuma. Para la generación del mapa sensorial

de los productos evaluados por el método de perfil rápido se realizó un análisis procrustes generalizado [13]. Para todos los análisis se utilizó el software XLSTAT Versión 2016.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades funcionales de las harinas: Se midieron por triplicado cuatro propiedades funcionales en las harinas producidas y en harinas comerciales de yuca (harina de tapioca marca: La Finestra sul Cielo®) y de trigo (Harina de trigo todo uso marca: Robin Hood®), como puntos de referencia las dos últimas (Tabla 1).

TABLA 1

Propiedades funcionales de las harinas producidas: deshidratación directa (H₁), fermentada (H₂), fermentada-cocida (H₃), cocida (H₄); y de las harinas comerciales de yuca (H₅) y de trigo (H₆).

Tratamiento	Capacidad de absorción de agua (mL)	Capacidad de absorción de aceite (mL)	Capacidad de formación de espuma (%)	Actividad de formación de emulsión (%)
(H ₁)	467 ± 17 ^a	150,0 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,4 ^a	2,23 ± 0,03 ^a
(H ₂)	233 ± 17 ^b	167 ± 17 ^a	2,0 ± 0,1 ^b	1,10 ± 0,00 ^b
(H ₃)	683 ± 17 ^c	117 ± 17 ^a	0	0
(H ₄)	583 ± 17 ^d	150,1 ± 0,1 ^a	0	0
(H ₅)	250,0 ± 0,1 ^b	67 ± 17 ^b	0	0
(H ₆)	100,0 ± 0,1 ^c	100,1 ± 0,1 ^{ac}	2,6 ± 0,6 ^b	22,5 ± 0,1 ^c

Los resultados representan la media de tres mediciones ± DE. Valores de la misma columna que no comparten letra son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

El análisis de varianza unifactorial (ANOVA), arrojó un p-valor correspondiente al estadístico F menor a 0,05 para las propiedades funcionales de capacidad de absorción de agua, de aceite, de formación de espuma y actividad de emulsión; lo que indicó diferencias significativas en las muestras para cada una de estas propiedades funcionales. Para determinar entre cuáles tratamientos hubo diferencias significativas, se procedió a realizar la prueba de Tukey HDS, obteniéndose para el caso de la capacidad de absorción de agua, diferencias significativas entre todos los tratamientos, a excepción de, entre la harina fermentada y la harina comercial de yuca.

Para el caso de la capacidad de absorción de aceite, los tratamientos resultaron ser más homogéneos, encontrándose que no hay diferencias significativas entre cuatro tipos de harinas: i) la harina procesada por deshidratación directa y la harina comercial de yuca, ii) la harina fermentada

y la harina comercial de yuca, iii) la harina fermentada y la harina comercial de trigo, iv) la harina cocida y la harina comercial de yuca.

Con respecto a la capacidad de formación de espuma y actividad de emulsión, solo las harinas sin tratamiento térmico (H₁ y H₂) presentaron estas características, con valores por debajo del 5% y significativamente distintos entre ellas. Adicionalmente, se midió la menor concentración de gelificación, obteniéndose que la harina fermentada-cocida gelificó a la concentración 10%, seguida por la harina cocida y la harina comercial de yuca las cuales gelificaron a 16%, mientras que la harina procesada por deshidratación directa, la fermentada y la comercial de trigo gelificaron a una concentración de 30%.

Micrografías de las harinas: Por la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido se observaron cambios microestructurales evidentes entre las harinas que no recibieron tratamiento térmico (H₁

y H2) y las que si recibieron tratamiento térmico (H3 y H4), pero entre H1 y H2, y entre H3 y H4 no se observaron cambios microestructurales evidentes (Fig. 1). Tanto en la harina H1 como en la H2 se observaron gránulos de almidón de diferentes tamaños, algunos enteros, otros fraccionados, unos completamente esféricos y otros con una forma esférica-aplanada. Mientras que en el caso de las harinas fermentada- cocida y solo cocida (H3 y H4 respectivamente) se observaron en su mayoría estructuras amorfas.

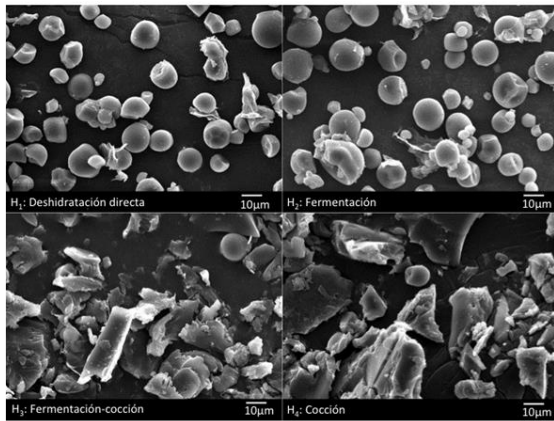


Fig. 1. Micrografías de las harinas producidas. Todas las fotografías fueron tomadas con un aumento de 1000X. H1: Harina obtenida por deshidratación directa, H2: fermentada, H3, fermentada-cocida, H4: cocida (Fuente: Elaboración propia)

Elaboración de productos horneados: Etapa 1, todas las harinas: Tomando en cuenta los porcentajes de absorción de agua obtenidos para cada tipo de harina, se formularon panes modificando por proporcionalidad la cantidad de agua en la receta base (Tabla 2). Para el caso de la harina de yuca comercial (H5), se obtuvo por proporcionalidad que era necesario agregar 24% m/m de agua destilada, sin embargo, fue necesario agregar 9% más de agua destilada para obtener una masa manejable. Cabe destacar, que la harina de yuca comercial utilizada (harina de tapioca marca: La Finestra sul Cielo®, H5), presentaba color marrón claro, lo cual pudiera indicar que en este producto se conserva parte de la cascara de la yuca durante el procedimiento de elaboración de la harina, por lo que probablemente el contenido de fibra de esta harina fuese mayor que el de las harinas elaboradas en este trabajo, modificando de esta manera su comportamiento con respecto a las otras harinas. Visualmente, los panes obtenidos presentaron características que los diferencian

como color, textura, y tamaño de la miga. En la Fig. 2, se muestran fotografías de los panes producidos con todas las harinas elaboradas (H1, H2, H3, H4) más el pan producido con la harina comercial de yuca (H5).

TABLA 2

Cantidad requerida de ingredientes en formulación de panes en base a las 4 harinas de yuca elaboradas (H1, H2, H3, H4) y la harina de yuca comercial (H5).

Ingredientes\ Harinas	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅
Harina (% m/m)	65,6 %	72,8 %	50,9 %	52,6%	54.8 %
Huevo (% m/m)	13,1 %	14,6 %	10,3 %	10,5 %	11 %
Levadura (% m/m)	0.5 %	0,6 %	0,4 %	0,4 %	0,4 %
Azúcar (% m/m)	0.5 %	0,6 %	0,4 %	0,4 %	0,4 %
Sal (% m/m)	0.5 %	0,6 %	0,4 %	0,4 %	0,4 %
Agua (% m/m)	19,8 %	10,8 %	37,6 %	35,7 %	33 %
Masa total (g)	381 g	343,5 g	491 g	475 g	456 g

Los valores se presentan en porcentaje de masa del ingrediente (g) con relación a la masa total (g).



Fig. 2. Panes elaborados con las diferentes harinas procesadas por deshidratación directa (H1), fermentación (H2), fermentación-cocción (H3), cocción (H4) y con la harina comercial de yuca (H5). A: panes enteros; B: detalle de los panes rebanados

Perfil rápido de productos horneados: Etapa 1, todas las harinas: De la aplicación de la metodología sensorial de perfil rápido se generaron 34 atributos relativos a características de apariencia, textura, miga, olor y sabor de los panes formulados en esta primera etapa (Tabla 3, Fig. 3). El análisis procrustes generalizado, generó un

mapa sensorial de los panes (Fig. 3) explicando el 79,41% de la varianza experimental, correspondiendo el 49,18% al primer componente (F1) y el 30,23% al segundo componente (F2), lo

cual muestra que los panelistas fueron capaces de percibir las diferencias y similitudes entre las muestras.

TABLA 3

Atributos que describen los dos primeros componentes (F1 y F2) obtenidos por el análisis procrustes generalizado aplicado en la evaluación sensorial de perfil rápido de los panes elaborados con todas las harinas de yuca.

Componente	Atributos
F1 +	Color blanco, arenoso, friable, formación de miga, dureza, seco, apariencia similar al pan de trigo, corteza dorada, sensación a almidón, dulzor, heterogéneo, esponjosidad, porosidad, sabor a pan.
F1 -	Color oscuro, zonas gelatinosas, gomoso, suavidad, húmedo, sabor crudo, tamaño de miga.
F2 +	Consistencia, masticabilidad, grumoso, tostado, olor ahumado-tocino.
F2 -	Apelmazado, partículas de yuca visibles, sabor extraño, olor extraño, olor a yuca, amargo, acidez.

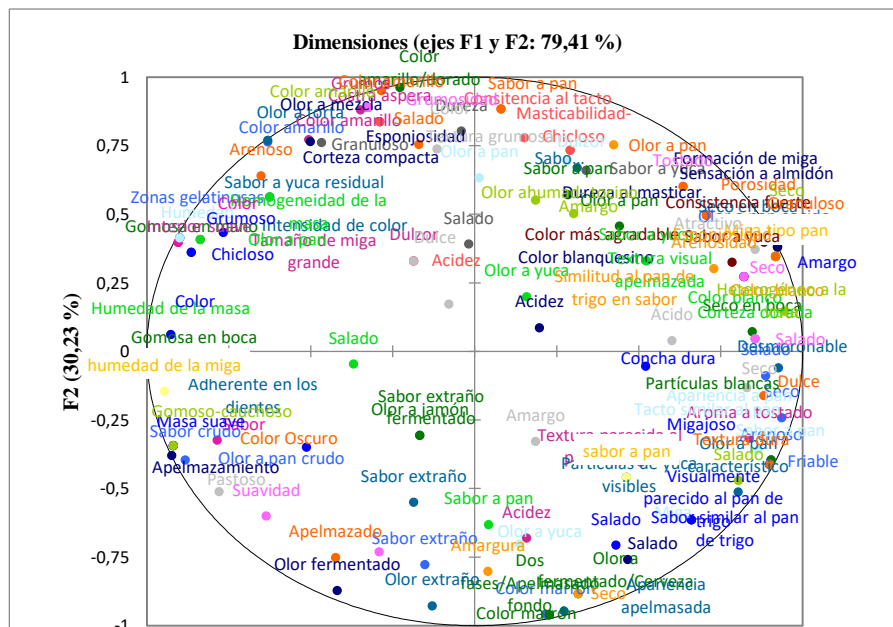
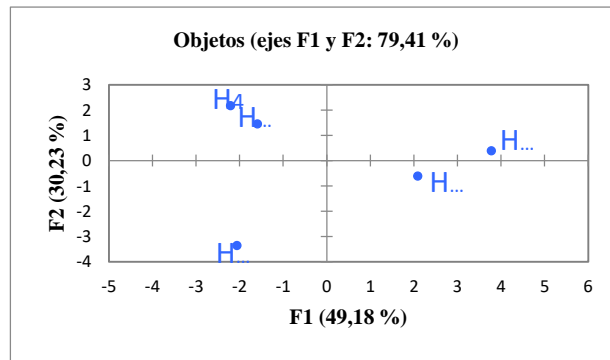


Fig. 3. Mapa sensorial de los panes elaborados con las harinas H1 (deshidratación directa), H2 (fermentada), H3 (fermentada-cocida), H4 (cocida) y H5 (comercial de yuca) según los atributos correspondientes a los dos primeros componentes (F1 y F2) obtenidos por el análisis procrustes generalizado aplicado en la evaluación sensorial de perfil rápido. Los diferentes colores en los atributos representan los diferentes panelistas que participaron en la evaluación sensorial.

Los panes formulados con la harina H1 y la H2 correlacionaron de forma positiva con F1, diferenciándose entre ellos por su correlación con componente F2. Mientras que los panes obtenidos con la harina H3 y la H4 presentaron comportamientos similares y se correlacionaron de forma negativa con F1 y positiva de F2. Por último, el pan preparado con la harina comercial de yuca (H5), presentó un comportamiento particular y se diferenció del resto, al correlacionar de forma negativa con ambos componentes.

Al analizar la correlación de los atributos con los componentes F1 y F2 (Tabla 3), se encontró que las características de: sabor a pan, apariencia similar al pan de trigo, corteza dorada, porosidad, esponjosidad; seco, duro y arenoso, correlacionaron de forma positiva con el componente F1. A pesar de que algunas de estas características pudieran ser negativas o poco deseadas, los atributos que se ubicaron en la región positiva de F1 fueron los más cercanos a los atributos del pan de trigo. Los panes con correlación positiva con F1, fueron los formulados con la harina obtenida por deshidratación directa (H1) y con la harina comercial de yuca. Sin embargo, el pan formulado con la harina comercial de yuca se ubicó en la región negativa de F2, en donde se correlacionaron atributos notoriamente negativos, como sabor y olor extraño, amargo, apelmazado, entre otras. Por lo que se eligió el pan elaborado con la harina H1 como el mejor candidato a ser mejorado.

Elaboración de productos horneados: Etapa 2, solo H1 variando % de emulsificante: En aras de tratar de disminuir la sequedad y dureza percibida por el panel en el pan que resultó presentar las mejores características, es decir, el realizado con la harina H1, se modificó la cantidad de huevo usado como emulsificante, variando el mismo desde 0% (sin huevo, se añadió el equivalente en agua) hasta 13,1% emulsificante, en total se obtuvieron 4 tipos de panes, 0%, 3,3%, 6,5% y 13,1% emulsificante.

Perfil rápido de productos horneados: Etapa 2, solo H1 variando % de emulsificante: En esta segunda etapa, se obtuvo que los componentes F1 y F2 explican un 93,62% de la varianza, correspondiendo el 75,09% al primer componente (F1) y el 18,53% al segundo componente (F2) (Fig. 4); encontrando que los panes formulados con un 6,5% de huevo se correlacionan de forma positiva con F1 y F2, mientras que los panes formulados con 0 y 3,3% de huevo correlacionan de forma negativa con F1 y positiva con F2, y por último, el pan formulado con 13,1% de huevo se ubica en la región negativa de ambos componentes. Al analizar los atributos correspondientes a cada uno de estos componentes en su región positiva y negativa (Tabla 4, Fig. 4), se encuentra que la mejor descripción del pan se correlaciona de forma positiva con los componentes F1 y F2, lo cual corresponde a la ubicación del pan obtenido agregando 6,5% huevo en la receta original.

TABLA 4

Atributos que describen los dos primeros componentes (F1 y F2) obtenidos por el análisis procrustes generalizado aplicado en la evaluación sensorial de perfil rápido de los panes elaborados la harina H₁ variando la cantidad de emulsificante.

Componente	Atributos
F1 +	Uniforme, cohesivo, dorado, color marrón, corteza crocante, dulce, parecido a masa de torta, elástico en mano, sabor a pan/campesino/integral, sabor ácido, húmedo, olor ácido/fermentado, olor tostado, olor a pan recién horneado
F1 -	Heterogéneo, friable, color blanco, apelmazamiento, crudo, seco, olor a masa de yuca, sabor a yuca
F2 +	Suave
F2 -	Amargo, duro, olor ahumado

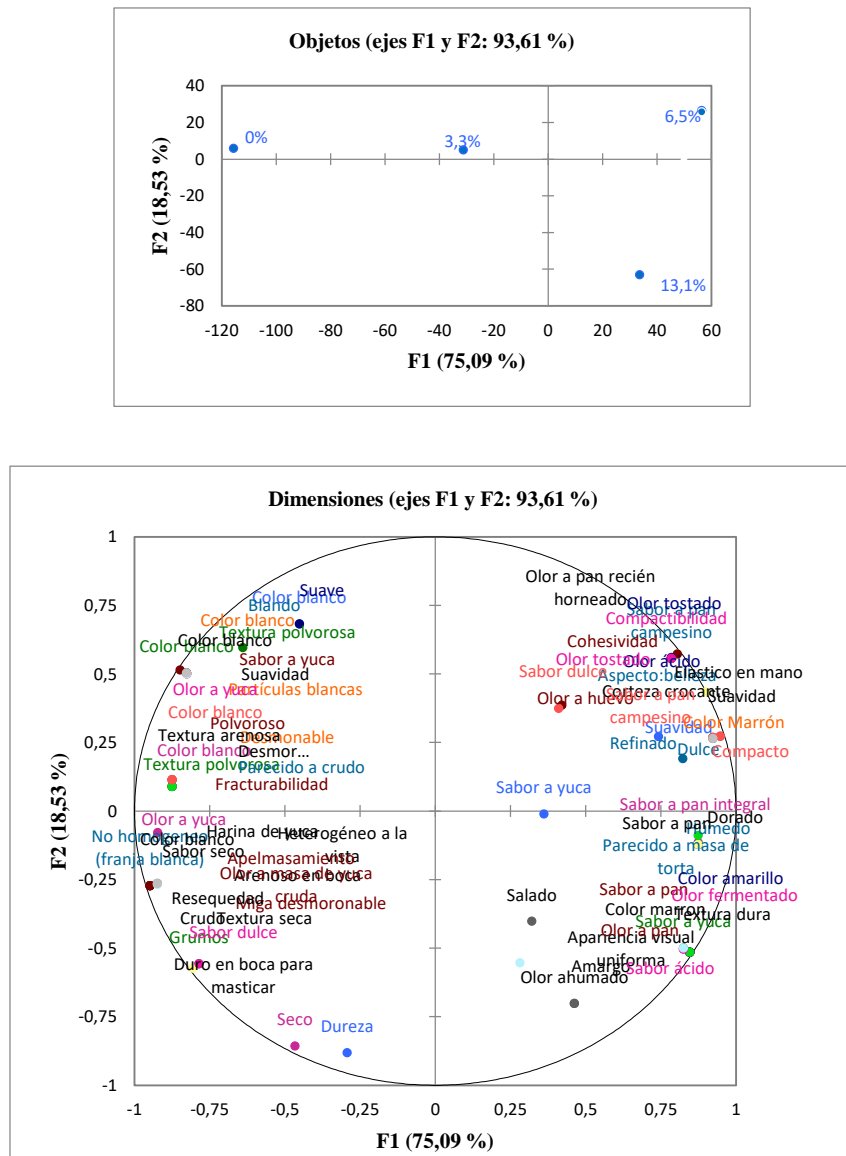


Fig. 4. Mapa sensorial según los atributos correspondientes a los dos primeros componentes (F1 y F2) obtenidos por el análisis procrustes generalizado aplicado en la evaluación sensorial de perfil rápido de los panes elaborados con las harinas H₁ variando la cantidad de emulsificante. Los diferentes colores en los atributos representan los diferentes panelistas que participaron en la evaluación sensorial.

APT: Con el fin de explorar la posibilidad de relacionar los resultados obtenidos por la evaluación sensorial con mediciones instrumentales de los panes, se realizó un APT a los panes formulados en base a las 4 harinas de yuca elaboradas (Fig. 5A) y a los panes formulados solo con la harina H1 variando la cantidad de emulsificante (Fig. 5B). Observándose que los panes formulados con las harinas H2 (fermentada) y H3 (fermentada-cocida) presentan una curva

fuerza-tiempo muy similar, mientras que los panes formulados con las harinas H1 (deshidratación directa) y H2 (fermentada) presentan cada uno una curva particular y diferente del resto, agrupación similar a lo encontrado sensorialmente por la metodología de perfil rápido. En el caso de los panes formulados en la segunda etapa (Fig. 5B) se obtuvo que el pan con 13,1% del emulsificante resultó ser el más duro, y que a medida que se disminuye el porcentaje del emulsificante, se logró

obtener un pan más suave, sin embargo, instrumentalmente no se diferenciaron los panes de 3,3 y 6,5% del emulsificante, mientras que sensorialmente si se diferenciaron en su ubicación en el eje del componente F2.

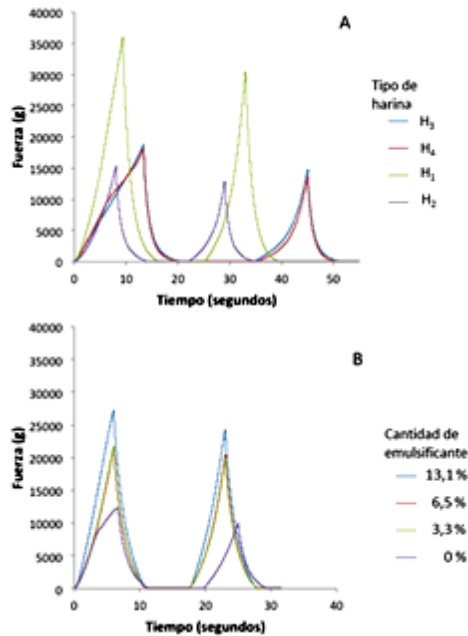


Fig. 5. Análisis de perfil de textura de los panes elaborados. A: todas las harinas, B: harina H1 variando la cantidad de emulsificante.

DISCUSIÓN

La microestructura y propiedades funcionales de las harinas se determinaron con el objetivo de identificar características y/o propiedades discriminativas entre las harinas que podrían ser claves en los atributos de los panes obtenidos a partir de estas harinas. La harina con la que se obtuvo el pan con las mejores características sensoriales fue la H1, la cual no posee tratamiento térmico ni fermentativo. Considerando la harina comercial de trigo (H6) como referencia de las propiedades que debe poseer una harina para obtener panes con atributos positivos, observamos que a mayor actividad de emulsión y a mayor concentración mínima para la gelatinización se obtienen panes con atributos similares al pan de trigo. Este es un hallazgo importante en el desarrollo de harinas en base a fuentes vegetales distintas al trigo. Hasmadi et al. [14], reportaron

una capacidad de formación de emulsión de 10% en harinas de yuca producidas con variedades provenientes de Malasia. Otros autores han encontrado que las propiedades funcionales de las harinas de yuca se ven altamente influenciadas según la variedad de yuca utilizada y las condiciones ambientales en las que crece este tubérculo [15-17]; por lo tanto, es difícil comparar los valores obtenidos en este estudio con los de otros autores. Sin embargo, es importante resaltar la importancia que tiene el evaluar la actividad y capacidad de formación de emulsión y la concentración mínima de gelificación el desarrollo de harinas que sirvan como sustituto de la harina de trigo en la panificación. Con respecto a la microestructura, la conservación de la estructura esférica de los gránulos de almidón mostró ser crucial en la obtención de panes con atributos positivos, ya que en el caso de las harinas en donde se perdió esta forma esférica debido al tratamiento térmico (harinas H3 y H4) se obtuvieron panes con atributos negativos. Este fenómeno de deformación granular observado en las harinas que recibieron tratamiento térmico en presencia de agua se conoce como gelatinización [18] el cual posiblemente generó el aumento de capacidad de absorción de agua observado en las harinas H3 y H4, fenómeno que ya ha sido relacionado con la obtención de panes de baja calidad [19].

A nivel de los panes, se obtuvo que el APT diferenció las muestras de panes de igual manera que lo obtenido sensorialmente cuando los panes eran notoriamente distintos entre ellos, es decir cuando los panes fueron elaborados con las cuatro harinas de yuca (Etapa 1), mientras que cuando los panes se elaboraron solo con la harina H1 (Etapa 2) variando la cantidad de emulsificante, el APT no logró discriminar entre los panes con 3,3 y 6,5 % de emulsificante, mientras que la metodología sensorial de perfil rápido si discriminó entre estos dos panes. Este resultado demuestra la capacidad discriminativa que tiene esta metodología sensorial, en la cual cada evaluador actúa como instrumento de medida que genera todas características o atributos que considere apropiados para discriminar entre muestras [20]. El reconocer y promover que evaluadores no entrenados, como en el caso empleado en este trabajo, pueden perfectamente actuar como instrumentos de medida

ha sido un tema de discusión desde hace más de 30 años [21], por lo que estos resultados son un aporte a esta discusión que continúa siendo actual.

La utilidad de la yuca como materia prima para hacer panes similares al pan de trigo ha sido ensayada y demostrada en este trabajo, tema en el que diversos autores han trabajado a lo largo de varios años, encontrando siempre la necesidad de añadir otras harinas ricas en proteínas y/o aditivos comerciales costosos para lograr un pan esponjoso similar al pan de trigo [22-24]. La ventaja del pan obtenido en este trabajo proviene de la sencillez y bajo costo de la receta, mientras que como desventaja se puede mencionar el uso del huevo como emulsificante, el cual disminuye el tiempo de vida del pan dificultando así su comercialización. Como alternativa para superar esta desventaja, se propone la comercialización de la harina H1 más que la comercialización del pan que se obtiene a partir de la misma; y dado la sencillez de la receta, esta harina podría ser usada en los hogares para obtener panes frescos libres de gluten y en base a rubros locales.

CONCLUSIONES

Las características sensoriales de los panes en base a harinas de yuca mejoraron al usar la harina sin tratamiento térmico ni fermentativo (H1) y al disminuir a la mitad la cantidad de huevo usado en la fórmula. El uso del huevo como emulsificante tiene la ventaja de ser un insumo de fácil acceso para el consumidor, característica que, en conjunto con la sencillez de la receta, soportan la idea de sustituir la harina de trigo por harinas de yuca tipo H1 en la panificación, obteniendo de esta manera panes nutritivos libres de gluten. La producción y comercialización de harinas de yuca es una alternativa que proponemos que se tome en cuenta en la búsqueda del uso de recursos locales para la diversificación de la dieta, lo cual se traduce en un mejor estado de salud y en un uso eficiente y sustentable de los recursos locales.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue generado a partir del proyecto 1398 del Instituto Venezolano de Investigaciones

Científicas y financiado parcialmente por la Coordinación de Ciencias de los Alimentos y Nutrición de la Universidad Simón Bolívar, Venezuela. Adicionalmente, agradecemos la cautelosa revisión del manuscrito por el Dr. José Bubis, la Lic. Thailyn Villas y la Lic. María Rosa Álvarez

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Aviara N, Ajibola O. Thermodynamics of moisture sorption in melon seed and cassava. *J. Food. Eng.* 2002, 55(2): 107-113. doi:10.1016/S0260-8774(02)00023-7
- [2] Gutiérrez M, Pérez D, Romero A, Rivas D. El estado de los recursos fitogenéticos: segundo informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas -INIA. El Limón (Venezuela): FAO-INIA Publishers; 2008. 17-31.
- [3] Aristizábal J, García J, Ospina B. Refined cassava flour in bread making: a review. *Ing. Investig.* 2017, 37(1): 25-33. doi:10.15446/ing.investig.v37n1.57306
- [4] Ospina PB, Ceballos H, Álvarez E, Bellotti AC, Calvert LA, Arias VB, Cadavid LLF, Pineda LB, Llano R, Germán A, Cuervo IM. La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Cali (Colombia): CIAT Publishers; 2002. 409-453.
- [5] Jensen S, Skibsted LH, Kidmose U, Thybo AK. Addition of cassava flours in bread-making: Sensory and textural evaluation. *LWT - Food Sci. Technol.* 2015, 60(1): 292-299. doi: 10.1016/j.lwt.2014.08.037
- [6] Crispim SM, Nascimento AMA, Costa PS, Moreira JLS, Nunes AC, Nicoli JR, Lima FL, Mota VT, Nardi RMD. Molecular identification of *Lactobacillus* spp. associated with puba, a Brazilian fermented cassava food. *Braz. J. Microbiol.* 2013, 44(1): 15-21. doi: 10.1590/S1517-83822013005000007
- [7] Padonou SW, Nielsen DS, Akissoe NH, Hounhouigan JD, Nago MC, Jakobsen M. Development of starter culture for improved processing of Lafun, an African fermented cassava food product. *J. Appl. Microbiol.* 2010,

- 109(4): 1402–1410. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04769.x
- [8] Pérez EE, Lares M, González Z, Tovar J. Production and characterization of cassava (*Manihot esculenta* crantz) flours using different thermal treatments. *Interciencia*. 2007, 32(9): 615–619.
- [9] Ohimain EI. Recent advances in the production of partially substituted wheat and wheatless bread. *Eur. Food Res. Technol.* 2014, 240: 257-271. doi: 10.1007/s00217-014-2362-1
- [10] Sosulski F, Garratt M y Slimkard A. Functional Properties of Ten Legume Flours. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 1976, 9:66–69.
- [11] Yasumatsu K, Sawada K, Moritaka S, Misaki M, Toda J, Wada T, Ishii K. Whipping and Emulsifying Properties of Soybean Products. *Agric. Biol. Chem.* 1972, 36(5): 719–727.
- [12] Chandra S, Singh S, Kumari D. Evaluation of functional properties of composite flours and sensorial attributes of composite flour biscuits. *J. Food Sci. and Technol.* 2015, 52(6): 3681-3688. doi: 10.1007/s13197-014-1427-2
- [13] Varela P, Ares G. *Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*. Florida (USA): CRC Press; 2014. 175-206.
- [14] Hasmadi M, Harlina L, Jau-Shya L, Mansoor AH, Jahurul MHA, Zainol MK. Physicochemical and functional properties of cassava flour grown in different locations in Sabah, Malaysia. *Food Res.* 2020, 4(4): 991-999. doi: 10.26656/fr.2017.4(4).405
- [15] Sandoval A, Fernández A. Physicochemical characterization of two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starches and flours. *Sci. Agroalimentaria*. 2013, 1: 19-25.
- [16] Aryee FNA, Oduro I, Ellis WO, Afuakwa JJ. The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. *Food Control.* 2006 17(11): 916-922. doi: 10.1016/j.foodcont.2005.06.013
- [17] Niba LL, Bokanga MM, Jackson FL, Schlimme DS, Li BW. Physicochemical properties and starch granular characteristics of flour from various *Manihot esculenta* (Cassava) genotypes. *J. Food Sci.* 2001, 67(5): 1701-1705. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb08709.x
- [18] Paes SS, Yakimets I, Mitchell JR. Influence of gelatinization process on functional properties of cassava starch films. *Food Hydrocoll.* 2008, 22(5): 788-797. doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.03.008
- [19] Ngemakwe PN, Le Roes-Hill M, Jideani V. Advances in gluten-free bread technology. *Food Sci. Technol. Int.* 2015, 21(4): 256–276. doi: 10.1177/1082013214531425
- [20] Varela P, Ares G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Res. Int.* 2012, 48(2): 893–908. doi: 10.1016/j.foodres.2012.06.037
- [21] Moskowitz HR. The intertwining of psychophysics and sensory analysis: historical perspectives and future opportunities—a personal view. *Food Qual. Pref.* 2003, 14(2): 87-98. doi:10.1016/S0950-3293(02)00072-1
- [22] Pasqualone A, Caponio F, Summo C, Paradiso VM, Bottega G, Pagani MA. Gluten-Free Bread Making Trials from Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Flour and Sensory Evaluation of the Final Product. *Int. J. Food Prop.* 2010, 13: 562–573. doi: 10.1080/10942910802713172
- [23] Khalil AH, Mansour EH, Dawoud FM. Influence of Malt on Rheological and Baking Properties of Wheat–cassava Composite Flours. *LWT - Food Sci. Technol.* 2000, 33(3): 159-164. doi:10.1006/food.1999.0629
- [24] Udofia P, Udoudo P, Eyen N. Sensory evaluation of wheat-cassava-soybean composite flour (WCS) bread by the mixture experiment design. *Afr. J. Food Sci.* 2013, 7(10): 368-374. doi: 10.5897/AJFS09.108
- Pérez, Suhey:** Licenciada en Química. Maestría en Ciencia de los Alimentos. Profesor categoría Asociado del Departamento de Química de la Universidad Metropolitana, Caracas, Venezuela. sperez@unimet.edu.ve. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6199-9805>
- Silva-Iturriza, Adriana:** Licenciada en Biología. Doctorado en Biología Evolutiva. Estudiante de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Investigadora categoría Asociado III del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela. silvaiturriza@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0003-3706-0341>

Artículo original

Distribución de antimonio pentavalente y trivalente posterior a la administración de un leishmanicida experimental.

Distribution of pentavalent and trivalent antimony after administration of experimental leishmanicide.

Briceño-Páez Luisa Carolina^{1*}, Petit de Peña Yaneira², Vicuña-Fernández Nelson³, Guillen Juan Carlos¹, Vásquez Laura⁴, Scorza-Dagert José Vicente⁵.

¹Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Análisis y Control, Mérida 5101–Venezuela. ²Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular, Mérida 5101–Venezuela. ³Universidad de Los Andes. Facultad de Medicina. Departamento de Farmacología y Toxicología, Mérida 5101–Venezuela. ⁴Laboratorio de Farmacología, Escuela de Medicina, Extensión Valera, Universidad de Los Andes. Valera, Trujillo, 3101, Venezuela. ⁵Centro de Investigaciones Parasitológicas José Witremundo Torrealba, Núcleo Universitario Rafael Rangel (NURR), Trujillo, 3101, Venezuela.

Recibido: marzo de 2024–Aceptado: junio de 2024

RESUMEN

El presente estudio evaluó la capacidad de las especies pentavalente y trivalente de antimonio de distribuirse en diferentes tejidos una vez administrada una dosis única correspondiente a 5 mg de Sb(V)/kg de peso de un leishmanicida experimental en ratas hembra BIOULA:*Sprague Dawley*. Las muestras de tejido fueron tomadas en diferentes intervalos y analizadas empleando un sistema de inyección en flujo-generación de hidruros acoplado a espectroscopia de absorción atómica. Las curvas de concentración (ng/g) en función del tiempo de Sb(V) demostraron la rápida absorción y amplia distribución de la especie en los diferentes tejidos estudiados, encontrándose los niveles más elevados de esta especie en el riñón, obteniéndose la $C_{máx}$ a las 0,25 horas. Al considerar la capacidad del Sb(III) de difundir en los tejidos, el mismo fue cuantificado en todos los tejidos en estudio, a excepción del músculo esquelético, donde no pudo ser detectado. Destaca el hecho, que la porción terminal de las curvas del

logaritmo de concentración vs tiempo presentan una pendiente positiva en todos los tejidos, salvo el riñón, probablemente producto de la conversión in vivo de los antimoniales de Sb(V) a Sb(III). El estudio de la distribución de ambas especies de antimonio resulta útil para proporcionar mayor información sobre la posible relación entre los niveles de las especies en los distintos tejidos y la acción farmacológica y tóxica de esta formulación leishmanicida experimental.

PALABRAS CLAVE

Distribución, tejidos, antimonial pentavalente, Ulamina.

ABSTRACT

The present study evaluated the ability of pentavalent and trivalent antimony species to distribute in different tissues after a single dose proportional to 5 mg Sb(V) of an experimental leishmanicide was administered to female BIOULA:*Sprague Dawley* rats. Tissue samples

were taken at different intervals and analyzed using a flow injection-hydride generation system coupled to atomic absorption spectroscopy. The concentration curves (ng/g) as a function of time of Sb(V) demonstrated the rapid absorption and wide distribution of the species in the different tissues studied, finding the highest levels of this species in the kidney, obtaining the C_{max} at 0.25 hours. Considering the ability of Sb(III) to diffuse into tissues, it was quantified in all tissues under study, with the exception of skeletal muscle, where it could not be detected. The fact stands out that the terminal portion of the curves of the logarithm of concentration vs. time present a positive slope in all tissues, with the exception of the kidney, probably due to the in vivo conversion of antimonials from Sb(V) to Sb(III). The study of the distribution of both antimony species is useful to provide further information on the possible relationship between the levels of the species in the different tissues and the pharmacological and toxic action of this experimental leishmanicidal formulation.

KEY WORDS

Distribution, Tissue, Pentavalent antimonial, Ulamina.

INTRODUCCIÓN

Desde 1940 las sales pentavalentes de antimonio representan el tratamiento de primera línea de la leishmaniasis, como monoterapia o en combinación con agentes como la anfotericina B, pentamidina, paramomicina, allopurinol, azoles, miltefosina, inmunoterapia o productos naturales [1-15]; sin embargo, debido a que la leishmaniasis presenta diversos grados de sensibilidad al tratamiento en función del tipo de manifestación clínica presente, visceral, cutánea o mucocutánea, la comunidad científica se mantiene en constante búsqueda de moléculas que muestren efectividad contra los parásitos de *Leishmania*. En este sentido, Scorza y col., [16] han conducido la síntesis de un complejo antimonial pentavalente denominado Ulamina, formulación experimental, no comercializada aún, que ha mostrado resultados

terapéuticos prometedores en diferentes ensayos. Los antimoniales pentavalentes actúan como profármacos, siendo la hipótesis más considerada de su mecanismo de acción, la que involucra el potencial de reducción del Sb(V) en los sistemas biológicos, razón por la cual, se propone la reducción in vivo de los complejos de Sb(V) a compuestos más tóxicos de Sb(III) [10,17]. La evaluación de la efectividad de Ulamina frente a los parásitos de *Leishmania* en pacientes con leishmaniasis cutánea localizada por especies del subgénero *Viannia*, mediante la aplicación perilesional del compuesto, reveló que el 95 % de los pacientes logró cicatrización completa de las lesiones, sin manifestaciones secundarias desfavorables, ni recidivas o recaídas en más de cinco años de tratados, así como reducción significativa del tiempo de aplicación [16,18]. De igual manera, Ulamina ha resultado terapéuticamente efectiva en terapia combinada. La investigación realizada por Reyes y col., [19] demostró la potenciación del proceso de cicatrización de las lesiones leishmánicas por *L. amazonensis* al combinar Ulamina con terapia larval empleando *M. domestica*, en hámsteres macho infectados. Recientemente, ensayos de una formulación de uso tópico han demostrado que Ulamina vehicularizada en una nanoemulsión al 10% en peso, puede ser considerada como una formulación tópica promisoriosa. Los resultados en dos pacientes a quienes le aplicaron la formulación, sobre las lesiones cutáneas causadas por *L. braziliensis*, cada 12 horas durante 6-7 días, presentaron una curación total bacteriana y de la herida [20].

Hay que tener presente que el uso racional de los antimoniales pentavalentes, amerita un patrón de administración que logre la máxima eficacia con el mínimo riesgo. Los antimoniales utilizados en la terapéutica antileishmania han demostrado ser igualmente eficaces al emplearse a bajas y altas dosis, lo que justifica la realización de estudios farmacocinéticos en animales de experimentación y grupos especiales, ya que la farmacocinética de los antimoniales es variable. En el caso de la Ulamina, Vásquez y col., [21] administraron una dosis única intramuscular de 5 mg.kg⁻¹ de peso a adultos sanos con el objetivo de evaluar sus

parámetros farmacocinéticos. En estos sujetos, la farmacocinética de Ulamina fue consistente con un modelo bicompartimental de eliminación, mostrando un V_d de $6,66 \text{ L.kg}^{-1}$, el cual es mayor que al descrito para otras formulaciones. Los resultados reflejan que la Ulamina se absorbe rápida y completamente con una K_a de $1,87 \text{ h}^{-1}$ y alcanza una C_{max} de $1,12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en un T_{max} de 1 h , y dada la pequeña diferencia entre la C_{max} y la concentración mínima a las 24 horas ($0,28 \mu\text{g/mL}$), posiblemente el fármaco es retenido a nivel tisular y eliminado lentamente [21]. Por otro lado, al comparar la farmacocinética de Ulamina y Glucantime® en ratas sanas sometidas a una dosis de equivalente a $5 \text{ mg Sb(V).kg}^{-1}$, Petit de Peña y col., [22] obtuvieron que el comportamiento farmacocinético del antimonio se adoptó a un modelo no compartimental. Al evaluar el comportamiento cinético de las especies, observaron que las concentraciones máximas alcanzadas de antimonio total y pentavalente para ambos antimoniales fueron semejantes, mientras la C_{max} de la especie trivalente lograda con Ulamina estuvo $43,18 \%$ por debajo de la C_{max} obtenida con Glucantime®. La disminución de los niveles plasmáticos de Sb total sucede más lentamente a partir de Ulamina ($K_{el} = 0,15 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$ vs $0,26 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$); lo que supondría una mayor permanencia de las especies antimoniales en el plasma sanguíneo, a partir de la administración de esta formulación. Para el Sb(V) este comportamiento es opuesto, siendo el $K_{el} = 2,01 \pm 0,25 \text{ h}^{-1}$ con Ulamina y $1,11 \pm 0,05 \text{ h}^{-1}$ con Glucantime®, lo que refleja un incremento de dos veces el valor de la K_{el} para el caso de Ulamina. El Sb(III) no mostró diferencias en la constante de eliminación a partir de ambos antimoniales. Teniendo en cuenta que existe conversión del Sb(V) a Sb(III), el cual es la especie activa y tóxica, es favorable que la conversión sea más rápida a partir de Ulamina que del Glucantime® [22].

Aunque los datos farmacocinéticos en el plasma sanguíneo son clínicamente relevantes en la medida en que reflejan a los del sitio de acción, es importante considerar que el sitio de la infección por *Leishmania* generalmente no es la sangre, sino ciertos tejidos y órganos como corazón, músculo, hígado, entre otros. El destino del antimonio y sus especies después de la administración de Ulamina

es de gran interés para el estudio futuro de la terapia con esta formulación en diferentes situaciones clínicas, en virtud de que una de las hipótesis con mayor aceptación por la comunidad científica es que la cantidad de exposición del parásito infeccioso al Sb (V) es un factor importante en la erradicación de la *Leishmania*. Una vez administrado el fármaco, el contacto con el parásito está controlado por la velocidad con que la especie Sb(V) llega y sale de las lesiones. Por lo tanto, las concentraciones tisulares en lugar de las concentraciones sanguíneas determinan el resultado clínico y se puede esperar que permitan una mejor predicción del efecto terapéutico que las concentraciones sanguíneas. De igual manera, la terapia antileishmania se asocia a la aparición de diversos efectos secundarios a nivel cardíaco, hepático y renal. Estos hechos hacen, que el fracaso terapéutico en la leishmaniasis sea común en áreas endémicas, debido en parte, al compromiso inmunológico del paciente, la presencia de infecciones recurrentes, la resistencia a las drogas y cambios en la farmacocinética [23]. Por ello, en este trabajo se estudia la disposición de las especies de antimonio en diferentes tejidos, posterior a la administración de una dosis única en ratas *BIOULA: Sprague Dawley*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales: En la investigación, se incluyeron treinta y ocho ratas *BIOULA: Sprague Dawley* hembras, de la misma edad, con un peso promedio de $249 \pm 19 \text{ g}$, criadas en el bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA), sustentadas con una dieta convencional y agua *ad libitum* durante todo el ensayo. De este grupo de animales, se tomaron treinta y seis, los cuales fueron ubicados en el interior de jaulas individuales, generando nueve grupos de cuatro animales cada uno, asignados a los diferentes tiempos de toma de muestra. Dos animales fueron tomados como control. Los animales se mantuvieron a una temperatura aproximada de 19°C (temperatura ambiental) durante todo el ensayo. El protocolo experimental aplicado en esta investigación fue aprobado por el Comité de Bioética del BIOULA.

Fármaco, dosis y diseño experimental: Una dosis única de Ulamina (pentacloruro de antimonio y N-metil glucamina) 0,3 g/mL de Sb(V), Lote 2006. [16], equivalente a 5 mg Sb(V)/kg, fue administrada mediante inyección intraperitoneal a cada uno de los treinta y seis animales. Dos animales seleccionados al azar, conformaron el grupo control, por lo tanto no recibieron el antimonial, solo se les suministró una dosis de anestésico para la toma de muestras. Posterior a la administración de Ulamina, los animales fueron anestesiados mediante la administración de una dosis de 50 mg/kg de pentobarbital sódico grado USP, y fueron tomados los tejidos (corazón, pulmón, hígado, riñón y músculo esquelético) constantemente a las 0,25-0,75-1-2-4-8-12-24 horas posterior a la administración de la dosis. Para remover la sangre superficial, los tejidos fueron lavados con agua 18 MΩ a 25°C, obtenida de un sistema purificador de agua Barnstead NANOpure Infinity® UV (Iowa, USA), y el excedente de agua fue retirado empleando papel absorbente. Seguidamente, los tejidos fueron exactamente pesados y almacenados en bolsas herméticas de polietileno, y posteriormente liofilizados en tubos de vidrio herméticamente cerrados empleando un liofilizador LYOVAC GT2 Leybold heraeus. (Hessen, Alemania), y refrigerados a -4°C hasta su posterior análisis.

Metodología analítica: La cuantificación de antimonio y sus especies en los diferentes tejidos se llevó a cabo empleando un sistema de inyección en flujo y generación de hidruros, acoplado a espectroscopia de absorción atómica (IF-GH-EAA) [24]. La metodología provee un límite de detección correspondiente a la concentración de 3 veces la desviación estándar de la absorbancia del blanco de 0,23 $\mu\text{g. L}^{-1}$ para Sb(III) y 0,78 $\mu\text{g. L}^{-1}$ para Sb(V). El valor de desviación estándar fue 3,74 % para Sb(III) y 3,41 % para Sb(V).

Para el análisis de las muestras se emplearon: solución patrón de 1000 mg.L^{-1} de Sb(III), obtenida mediante la disolución de tartrato de potasio y antimonio $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, (Merck, Alemania, 99,5% m/m.) en agua. Una solución patrón de 100 mg.L^{-1} de Sb(V), preparada a partir de la solución de 1000 mg.L^{-1} de Sb(III), posterior a un proceso de oxidación. Para la formación del

hidruro se utilizó como agente reductor una solución de borohidruro de sodio NaBH_4 0,2% m/v (Sigma-Aldrich, Alemania, 98,5 % m/m) NaOH 0,6% m/v (Riedel de Haën, Alemania, 99% m/m). Como agente antiespumante se empleó una solución de Foamkill 0,3 % v/v en medio de ácido acético 1 mol.L^{-1} para la determinación de Sb(III) y 0,2% v/v en H_2SO_4 0,5 mol.L^{-1} para la determinación de Sb(V) respectivamente. Como agente pre-reductor del Sb(V), se utilizó una solución de L-cisteína 6 % m/v (Sigma, Alemania, 98 % m/m) en H_2SO_4 mol.L^{-1} . Como gas portador se empleó una corriente de nitrógeno, a un flujo de 7,5 mL.min^{-1} (AGA) [24].

Estudio farmacocinético: La evaluación farmacocinética se realizó utilizando los datos individuales de cada animal. Se calculó el valor promedio y la desviación estándar para cada grupo. Con ello, se obtuvieron las curvas de concentración promedio de la especie antimonial versus tiempo, en cada tejido de estudio. La concentración máxima (C_{max}) y el tiempo para alcanzar la C_{max} , fue determinado mediante la inspección visual de las gráficas de concentración versus tiempo, y fueron cotejados mediante el uso del programa computarizado PK solutions, versión 2.0 (Summit Research Services, Montrose, Colorado) aplicando un modelo no compartimental, basado en la teoría de momento estadístico, además, el programa permitió adquirir los demás parámetros farmacocinéticos, como el área bajo la curva desde 0 a un tiempo (AUC_{0-t}) calculado mediante la regla trapezoidal en el intervalo de 0 – t y su proyección hasta infinito ($\text{AUC}_{0-\infty}$) por adición de $C_{\text{pultima}}/\text{Kel}$, donde C_{pultima} corresponde a la última concentración medida y Kel , representa la constante de velocidad de eliminación, estimada por regresión lineal de la porción terminal del perfil concentración vs tiempo; el tiempo de vida media $t_{1/2}$, calculado como el $\ln 2/\text{Kel}$. El tiempo medio de residencia (MRT; equivalente a AUMC/AUC) también fue calculado. La depuración total aparente (CL/F) se obtuvo mediante la ecuación $\text{CL}/F = \text{Dosis}/\text{AUC}_{0-\infty}$ donde F, representa la biodisponibilidad del antimonio posterior a la administración intraperitoneal y el volumen aparente de distribución fue calculado como $\text{Vd}/F = \text{Dosis}/\text{AUC}_{0-\infty} * \text{Kel}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para cada una de las muestras, corazón, pulmón, hígado, riñón y músculo esquelético de ratas *BIOULA: Spague Dawley* que recibieron una

dosis de Ulamina equivalente a 5 mg Sb(V)/kg, se obtuvieron los niveles de la especie pentavalente y trivalente de antimonio. La Tabla 1, muestra los valores promedios en cada tejido de estudio en los distintos tiempos de toma de muestra.

TABLA 1.

Concentraciones promedio (ng/g) de Sb(V) y Sb(III) en tejidos posterior a la administración intraperitoneal de Ulamina en dosis equivalente a 5 mg Sb(V)/Kg en ratas *BIOULA: Sprague Dawley sanas*.

Tejido	Especie	Tiempo (h)								
		0,25	0,5	0,75	1	2	4	8	12	24
Hígado	Sb (V)	3188 ± 270	1915 ± 116	1434 ± 147	662 ± 67	459 ± 37	388 ± 44	214 ± 34	272 ± 30	178 ± 31
	Sb(III)	282 ± 11	189 ± 9	160 ± 8	121 ± 10	80 ± 6	68 ± 8	42 ± 4	82 ± 1	87 ± 3
Riñón	Sb (V)	37883 ± 1607	34300 ± 1000	14946 ± 685	10148 ± 201	5546 ± 180	4361 ± 149	1653 ± 106	2482 ± 149	1318 ± 152
	Sb(III)	1339 ± 96	1204 ± 57	672 ± 29	445 ± 26	276 ± 26	220 ± 17	137 ± 15	157 ± 13	120 ± 7
Corazón	Sb (V)	3336 ± 138	2314 ± 123	1403 ± 108	996 ± 97	562 ± 54	112 ± 5	82 ± 6	333 ± 8	289 ± 9
	Sb(III)	181 ± 10	118 ± 8	71 ± 5	57 ± 2	45 ± 4	68 ± 5	68 ± 2	100 ± 3	83 ± 2
Pulmón	Sb (V)	11674 ± 309	8122 ± 105	5449 ± 190	3210 ± 200	610 ± 42	107 ± 17	23 ± 9	ND	ND
	Sb(III)	269 ± 17	115 ± 11	95 ± 4	131 ± 5	127 ± 2	131 ± 5	156 ± 10	181 ± 6	250 ± 7
Músculo esquelético	Sb (V)	3456 ± 167	2653 ± 56	1869 ± 154	513 ± 26	248 ± 38	46 ± 1	38 ± 5	14 ± 2	33 ± 6
	Sb(III)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

C promedio: concentración promedio; DE: desviación estándar, ND: no detectable.

Con estos resultados, y a fin de conocer la distribución de las especies de antimonio se elaboraron gráficas del logaritmo de la

concentración promedio de la especie pentavalente y trivalente de antimonio (ng/g de tejido seco) en función del tiempo (Fig. 1).

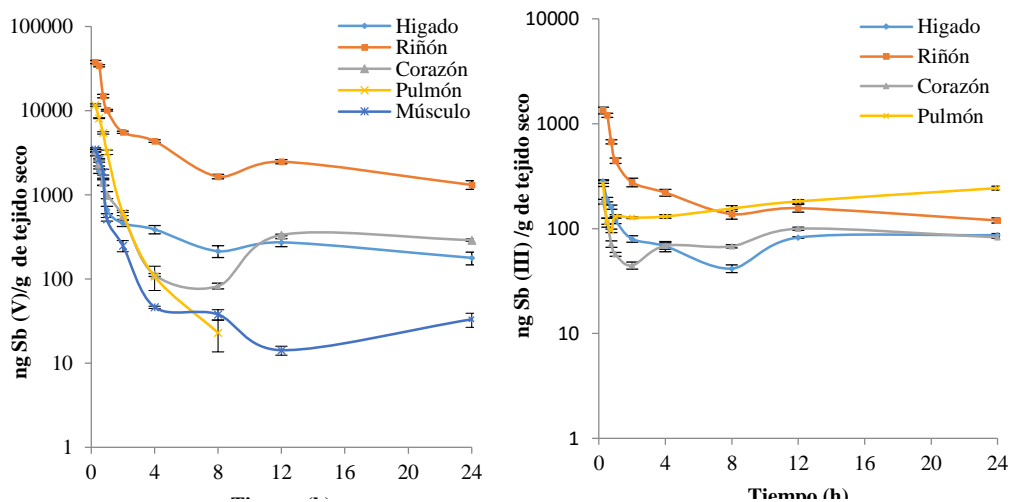


Fig. 1. Curvas de concentración (ng/g) versus tiempo de antimonio pentavalente y trivalente en tejidos posterior a la administración de una dosis única de Ulamina equivalente a 5 mg Sb(V)/kg.

La Tabla 2, resume los parámetros farmacocinéticos promedio para ambas especies de antimonio en los diversos tejidos.

Tabla 2.

Parámetros farmacocinéticos promedio de las especies de antimonio en ratas *BIOULA:Sprague Dawley* (n = 36) obtenidos en diferentes tejidos posterior a la administración de una dosis única de Ulamina equivalente a 5 mg Sb(V)/kg.

Parámetro	Especie química	Hígado	Riñón	Corazón	Pulmón	Músculo esquelético
C _{máx} (ng/g)	Sb(V)	3188 ± 270	37883 ± 1607	3336 ± 138	11674 ± 309	3456 ± 167
	Sb(III)	282 ± 11	1339 ± 96	181 ± 10	269 ± 17	ND
T _{máx} (h)	Sb(V)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	Sb(III)	0,25	0,25	0,25	0,25	ND
t _{1/2} (h)	Sb(V)	18 ± 3	12 ± 1	12,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5	11 ± 3
	Sb(III)	32 ± 3	20 ± 4	31 ± 3	23 ± 2	NA
Kel (h ⁻¹)	Sb(V)	0,039 ± 0,006	0,059 ± 0,005	-0,057 ± 0,002	0,4 ± 0,1	0,06 ± 0,02
	Sb(III)	- 0,022 ± 0,003	0,035 ± 0,007	-0,023 ± 0,002	-0,030 ± 0,003	NA
AUC 0-t (ng/g.h)	Sb(V)	8002 ± 213	83904 ± 636	8387 ± 277	9602 ± 269	3288 ± 58
	Sb(III)	1898 ± 31	4679 ± 157	1967 ± 23	4324 ± 63	NA
AUC 0-∞ (ng/g.h)	Sb(V)	12751 ± 1629	106515 ± 4813	13580 ± 569	9669 ± 279	3849 ± 290
	Sb(III)	5867 ± 430	8192 ± 883	5646 ± 351	12424 ± 602	NA
MRT (h)	Sb(V)	24 ± 5	14 ± 2	22,0 ± 0,4	0,93 ± 0,06	8 ± 3
	Sb(III)	51 ± 4	28 ± 4	54 ± 10	42 ± 3	NA
CL/F (mL/h)	Sb(V)	99 ± 13	12,0 ± 0,5	12 ± 0,5	129 ± 3	325 ± 28
	Sb(III)	213 ± 17	153 ± 20	221 ± 16	100 ± 6	NA
Vd/F (mL)	Sb(V)	2540 ± 94	199 ± 9	199 ± 9	346 ± 103	5262 ± 865
	Sb(III)	9717 ± 619	4403 ± 302	9795 ± 99	3333 ± 155	NA

C_{máx}: concentración máxima; **T_{máx}**: tiempo máximo; **Kel**: constante de eliminación, **t_{1/2}**: tiempo de vida media; **AUC0-t**: área bajo la curva desde 0 a un tiempo; **AUC0-∞**: área bajo la curva desde 0 a tiempo infinito; **MRT**: tiempo medio de residencia; **CL/F**: clearance total ajustado a la biodisponibilidad; **Vd/F**: volumen aparente de distribución; ± desviación estándar; **ND**: no detectable; **NA**: no aplica.

A nivel tisular, la mayor concentración de Sb(V) fue encontrada en el riñón. Al comparar los niveles obtenidos en este tejido con los estudios previos reportados por Petit de Peña y col., [22] en el plasma (6665 ± 1211 ng/mL) es notoria la gran afinidad de esta especie de antimonio por el riñón, debido a que los niveles alcanzados resultaron ser aproximadamente 2 veces mayor a los encontrados en el plasma. El segundo órgano con mayores niveles del metal fue el pulmón, alcanzando concentraciones de 11674 ± 309 ng/g. En los demás órganos estudiados no se evidenciaron diferencias significativas en las concentraciones máximas alcanzadas. Referente a la cantidad de Sb(V) disponible en cada uno de los tejidos, la misma,

sigue el siguiente orden: riñón > pulmón > hígado = corazón > músculo esquelético.

Destaca el hecho que en el corazón el descenso de las concentraciones ocurre de manera gradual hasta 8 h posterior a la administración de la dosis, sin embargo, luego de este tiempo se observa un aumento progresivo de los niveles, generando una pendiente positiva en la fase de eliminación, lo que podría suponer una redistribución de la especie en este tejido. En todos los tejidos en estudio fue posible cuantificar Sb(V) hasta 24 horas después de administrada la dosis, a excepción del pulmón, donde la especie fue detectada solo hasta 8 horas posterior.

En consideración a la distribución del antimonio trivalente las curvas de concentración

(ng/g) versus tiempo, sugieren una rápida absorción y distribución de la especie por los diferentes tejidos como el hígado, riñón, corazón y pulmón, a excepción del músculo esquelético, donde no fue posible detectar la especie con la metodología diseñada. Destaca el hecho, que la porción terminal de las curvas del logaritmo de concentración vs tiempo presentan una pendiente positiva en todos los tejidos, a excepción del riñón, probablemente producto de la conversión in vivo de los antimoniales, de Sb(V) a Sb(III), reportada en la bibliografía o una posible redistribución en estos tejidos. Esta especie reflejó un comportamiento similar a la especie pentavalente, al obtenerse la mayor concentración de Sb(III), en el tejido renal, siendo 0,25 h el tiempo requerido para alcanzarla, siendo este tiempo igual en los demás tejidos evaluados donde pudo ser detectada la especie. Se evidencia la fuerte afinidad de este tejido por la especie antimonial al comparar la Cmax obtenida con el valor plasmático (7 ± 1 ng/mL) reportado por Petit de Peña y col., [22]. El hígado resultó ser el segundo órgano donde se obtuvo los mayores niveles de la especie trivalente, siendo este valor semejante al obtenido en el pulmón. La exposición de los diferentes tejidos al Sb(III) presenta el siguiente orden decreciente: pulmón > riñón > hígado = corazón, lo que sugiere la amplia distribución de esta especie por los órganos evaluados. A excepción del músculo esquelético, fue posible detectar la especie hasta 24 h posteriores de administrada la dosis.

CONCLUSIONES

Este estudio refleja la rápida absorción de las especies de antimonio una vez que se administra una dosis intraperitoneal de Ulamina equivalente 5 mg Sb(V)/kg en ratas BIOULA:Sprague Dawley, de igual manera, demuestra la amplia distribución de las especies pentavalente y trivalente de antimonio por los diferentes tejidos evaluados, hecho evidenciado en las elevadas concentraciones encontradas especialmente en el tejido renal, hepático y pulmonar, siendo estos órganos de distribución. Ambas especies de antimonio pudieron ser detectadas en todos los tejidos, a excepción del músculo esquelético en el cual no fue

posible cuantificar el Sb(III). El estudio de la distribución de ambas especies de antimonio resulta útil para proporcionar mayor información sobre la posible relación entre los niveles de las especies en los distintos tejidos y la acción farmacológica o tóxica de esta formulación leishmanicida experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] República Bolivariana de Venezuela. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Programa de Control de Leishmaniasis. Caracas (Venezuela): OPS; 2019; 139 - 145. [acceso: 5 de enero de 2024]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51880>
- [2] Organización Panamericana de la Salud. Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas. Washington, D.C. (EEUU): OPS; 2019; 59 - 68. [acceso: 20 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/50524>. <https://doi.org/10.37774/9789275320631>
- [3] Organización Panamericana de la Salud. Directrices para el tratamiento de las leishmaniasis en la Región de las Américas. Segunda edición. Washington, DC. (EEUU): OPS; 2022. [acceso: 21 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275325032>
- [4] Aronson N, Herwaldt B, Libman M, Pearson R, Lopez-Velez R, Weina P, Carvalho E, Ephros M, Jeronimo S, Magill A. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH)*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017; 96(1): 24–45. doi:10.4269/ajtmh.16-84256
- [5] García M, Barrio A, Parodi C, Becker J, Moreno S, Basombrío M. Miltefosina versus antimonio de meglumina en el tratamiento de la leishmaniasis mucosa. *Medicina.* 2014; 74(5); 371- 377.
- [6] Vélez J, Carrillo D. Leishmaniasis cutánea y anfotericina B liposomal. Reporte de caso.

- Infectio. 2013; 17 (4) 201-204. doi: 10.1016/S0123-9392(13)70732-X
- [7] López L, Higueta-Gutiérrez L, Cardona-Arias J. Eficacia de Anfotericina B y Rifampicina en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea: metanálisis. Arch de Medicina. 2016; 12 (4): 1-7. doi: 10.3823/1330.
- [8] Organización Panamericana de la Salud. Leishmaniasis en las américas: Recomendaciones para el tratamiento. Washington, D.C. (EEUU): OPS; 2013; 6 - 15. [acceso: 20 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/7704>
- [9] del Rosal T, Baquero-Artigao F, García MJ. Leishmaniasis cutánea. Rev. Pediatr. Aten. Primaria. 2010; (12):263-71.
- [10] Vásquez L. Terapéutica antileishmania: revisando el pasado, el presente y el futuro. Gac Méd Caracas. 2009; 117(2): 93-111.
- [11] Mollinedo S. Manual práctico de tratamiento de la Leishmaniasis Tegumentaria Americana. La Paz (Bolivia): Ministerio de Salud y Previsión Social. Unidad Nacional de Vigilancia Epidemiológica; 2002; 10- 40.
- [12] Mininodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. Travel Med. Infect. Dis. 2007; 5(3): 150-158. doi: 10.1016/j.tmaid.2006.09.004
- [13] Davidson R. Leishmaniasis. Medicine. 2005; 33(8):43-46. [https://doi.org/10.1016/S13573039\(07\)70001-4](https://doi.org/10.1016/S13573039(07)70001-4)
- [14] Armijos R, Weigel M, Calvopina M, Mancheno M, Rodríguez R. Comparison of the effectiveness of the two topical paromomycin treatments versus meglumine antimoniate for New World cutaneous leishmaniasis. Acta Tropica. 2004; 91(2): 153-160. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.03.009
- [15] Rupashree S, Sudipto G, Piu S, Mitali C. Efficacy of artemisinin in experimental visceral leishmaniasis. Int. J. Antimicrob. Agents. 2010; 36(1): 43-49. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.03.008
- [16] Scorza JV, Morales C, Petit Y, Vásquez L, Rojas E, Scorza J. Síntesis de un complejo antimonial pentavalente (Ulamina) y su aplicación experimental para el tratamiento de leishmaniasis cutánea localizada en Venezuela. Boletín de Mariología y Salud Ambiental. 2006; 46(1): 59-65.
- [17] Soto J, Soto P. Estado actual y futuro de la terapia anti-leishmaniásica en Colombia. Biomédica. 2006; 26(1):194-206. doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1513>
- [18] Vásquez L, Scorza JV, Vicuña-Fernández N, Petit Y, López S, Rojas E, Morales C, Bendezu H, Scorza J, Miranda L. Comparación de tolerabilidad y fisico-química entre los lotes de antimonial comercial y no comercializado (Glucantime® vs. Ulamina) en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea. MedULA. 2005; 12(1): 4-8.
- [19] Reyes A, Arrivillaga-Henríquez JC, Oviedo M, Scorza-Dagert JV, Ron L. Terapia larval con *Musca domestica* en el tratamiento de la úlcera leishmánica en un modelo murino. Acta biol. Colomb. 2020; 25(1):82-95. doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n1.77177>
- [20] Bullón J, Márquez L, Fernández J, Scorza C, Scorza JV, Rodríguez J, Cordero A, Véjar F, Koteich-Khatib S, Forgiarini A. A Promising Cutaneous Leishmaniasis Treatment with a Nanoemulsion-Based Cream with a Generic Pentavalent Antimony (Ulamina) as the Active Ingredient. Cosmetics. 2021; 8(4): 115-131. doi: <https://doi.org/10.3390/cosmetics8040115>
- [21] Vásquez L, Scorza JV, Scorza J, Vicuña-Fernández N, Petit de Peña Y, López S, Bendezú H, Rojas E, Vásquez L, Pérez B. Pharmacokinetics of Experimental Pentavalent Antimony After Intramuscular Administration in Adult Volunteers. Curr. Ther. Res. 2006; 67(3):193-203. <https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2006.06.005>
- [22] Petit de Peña Y, Vicuña-Fernández N, Briceño-Páez L, Guillen-Cañizares J, Vásquez L, Scorza-Dagert JV. Estudio farmacocinético comparativo de dos antimoniales pentavalentes empleados en la leishmaniasis cutánea en Venezuela. Rec. Fac. Farm. 2013; 55(1):18-25.
- [23] Ponte-Sucre A, Machuca C, Romero A, Díaz E, Padrón-Nieves M. Valor pronóstico de los

cambios fisiológicos asociados a la quimio-resistencia en *Leishmania*. VITAE Academia Biomédica Digital. 2007; (33): 1-22. [acceso: 20 de diciembre de 2022]. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=39&n=1165&m=8&e=1229>

- [24] Petit de Peña Y, Vielma O, Burguera JL, Burguera M, Rondón C, Carrero P. On-line determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue and whole blood by flow injection – hydride generation – atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 2001; (55): 743-754. doi: [https://doi.org/10.1016/S0039-1940\(01\)00483-0](https://doi.org/10.1016/S0039-1940(01)00483-0)

Briceño, Luisa: Farmacéutico (2005) Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Doctor en Química Analítica (2015). Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Profesor Asistente, adscrito a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (2016 – presente) Universidad de Los Andes. Mérida- Venezuela. Correo electrónico: briceolc@gmail.com Orcid ID: [Briceño, https://orcid.org/0000-0001-8289-5175](https://orcid.org/0000-0001-8289-5175)

Petit de Peña, Yaneira: Licenciada en Química (1984) Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Profesor Instructor ULA, 1985. PhD. Química Analítica Universidad de Córdoba, España y ULA, Venezuela 1995. Profesora Titular, Jubilada, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Correo electrónico: ypetit@gmail.com **Orcid ID** <https://orcid.org/0000-0002-2010-8444>

Vicuña, Nelson: Médico Cirujano (1967) Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Maestría

en Farmacología Clínica (1975) Universidad de Emory, EEUU. Becario Posdoctorado en Farmacología Clínica (1977) Universidad de Texas. EEUU. Profesor Titular Jubilado de Farmacología y Toxicología. Facultad de Medicina ULA. Correo electrónico: ngvicunar@gmail.com **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0002-7012-0812>

Guillen, Juan: Farmacéutico (2002) Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Maestría en Química Analítica (2006). Doctor en Química Analítica (2015) Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Profesor Agregado de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes (2007 – presente). Correo electrónico: juanguillen29@gmail.com **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-5674-8366>

Vásquez, Laura: Médico Cirujano. Magister Scientiae en Protozoología (2001) Instituto Experimental José Witremundo Torrealba, Universidad de Los Andes. Doctor en Ciencias Médicas (2006) Centro de Microscopía Electrónica, Universidad de Los Andes. Profesora Titular (Farmacología y Toxicología) Escuela de Medicina Extensión Valera, Universidad de Los Andes. Correo electrónico: lavasquez60@gmail.com **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-5777-0733>

Scorza, José: Farmacéutico egresado de la Universidad de Los Andes con Maestría en Protozoología (ULA). Miembro del Instituto Experimental José Witremundo Torrealba. Autor de trabajos publicados a nivel Nacional e Internacional. Conferencista y expositor en talleres de actualización en terapéutica (*Leishmaniasis*). Correo electrónico: jvscorz@yahoo.com **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-5412-4226>

Artículo original

Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Phytochemical screening and antibacterial activity of the extract of the leaves of *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Aparicio-Zambrano Rosa^{1*}, Cortez-Pérez María², Obregón-Díaz Ysbelia¹, Pérez-Colmenares Alida¹, Cordero Yndra³, Salazar-Vivas José¹, †Rojas-Fermín Luis¹, Villasmil Thyded⁴, Usubillaga Alfredo¹.

¹Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga Del Hierro”, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101 Venezuela. ²Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela. ³Departamento de Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela. ⁴Departamento de Farmacia Galénica, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, CP 5101, Venezuela.

Recibido: abril de 2024–Aceptado: junio de 2024

RESUMEN

Espeletiopsis pannosa (Standl.) Cuatrec., conocida como frailejón plateado, fue recolectada en los alrededores de la Laguna de Mucubají, ubicada en el Parque Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela. Las hojas secas y molidas se extrajeron con hexano/éter (3:1) en Soxhlet a 50°C. Los metabolitos secundarios fueron determinados mediante pruebas químicas de coloración y/o precipitación. La actividad antibacteriana se evaluó a una concentración de 1000 ppm frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) por el método de difusión de agar con discos. Los resultados del tamizaje fitoquímico permitieron demostrar la presencia de diterpenos, triterpenos y esteroides. El extracto presentó actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* con halos de inhibición de 7 mm para cada bacteria,

mientras que *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis* fueron resistentes. Este es el primer estudio sobre el tamizaje fitoquímico y la actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

PALABRAS CLAVE

Asteraceae, *Espeletiopsis*, *Espeletiopsis pannosa*, tamizaje fitoquímico, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Espeletiopsis pannosa (Standl.) Cuatrec., known as silver frailejón was collected in the surroundings of Mucubají Lagoon, located in moors Páramo Sierra Nevada (Mérida, Venezuela). The dried and ground leaves extracted in a Soxhlet at 50°C. Secondary metabolites were determined by chemical staining and/or precipitation tests. The antibacterial activity was evaluated at a concentration of 1000 ppm against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis*

(ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) by the agar disc diffusion method. Results obtained from this phytochemistry screening showed the presence of diterpenes, sterols and triterpenes. The extract presented antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with inhibition zones of 7 mm for each bacteria, while *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* were resistant. This is the first phytochemical screening and antibacterial activity performed on the leaves of *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

KEY WORDS

Asteraceae, *Espeletiopsis*, *Espeletiopsis pannosa*, phytochemistry screening, antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

La familia Asteraceae (Compositae), está ubicada dentro del orden Asterales, constituye un grupo cosmopolita, del que se reportan entre 1500 géneros y 25000 especies [1]. Los frailejones, son plantas que crecen en los páramos andinos de Colombia, Venezuela y Norte de Ecuador [2]. Cuatrecasas, botánico español radicado en Colombia se dedicó al estudio de estas plantas y en base al conocimiento que poseía de todas las especies estudiadas, consideró que todas tenían una morfología muy especial y llegó a la conclusión de que debían estar en una unidad taxonómica superior y las agrupó en la Subtribu Espeletiinae, se encuentra dividida en ocho géneros, según las características anatómicas, tres géneros arbóreos: *Carramboa*, *Libanothamus* y *Tamania*, y cinco géneros herbáceos: *Coespeletia*, *Espeletia*, *Espeletiopsis*, *Paramiflos* y *Ruilopezia* [3]. El género *Espeletiopsis* contiene 25 especies distribuidas en Colombia y Venezuela [4]. Las especies *E. angustifolia*, *E. cristalinensis*, *E. meridensis*, *E. pannosa*, *E. pozoensis* y *E. purpurancens* son endémicas de los estados Mérida, Táchira y Trujillo (Venezuela) [5, 6].

Espeletiopsis pannosa (Standl.) Cuatrec., es conocida como frailejón plateado [7], las hojas y partes aéreas han sido usadas en la medicina tradicional para tratar enfermedades respiratorias (bronquitis, asma), artritis, otitis, sudorífico y enfermedades de la piel [8]. Un estudio previo realizado por Usubillaga y cols (2003), indica que la fracción ácida del extracto hexano-éter de las hojas de esta planta contiene compuestos de origen diterpénico [9]. En la presente investigación se presenta el análisis fitoquímico preliminar y la actividad antibacteriana de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Botánico: La planta fue recolectada por el Dr. Alfredo Usubillaga, en los alrededores de la Laguna de Mucubaji, ubicada en el Parque Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela en enero de 1999. Una muestra testigo fue depositada e identificada como *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec., por el Dr. Pablo Meléndez en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (Voucher AU13).

Obtención del Extracto: Las hojas frescas (3,0 Kg) de la planta se separaron y colocaron en bandejas en una estufa a 40°C hasta completa sequedad, luego se procedió a moler para la obtención de un polvo fino. Posteriormente, se pesó 450,0 g del material vegetal molido y se realizó una extracción en Soxhlet con una mezcla de hexano-éter (3:1) (500 mL). La solución obtenida se filtró y concentró en un rotavapor a presión reducida a una temperatura no mayor a 45°C hasta un tercio de su volumen y se guardó en un frasco color ámbar a 4°C.

Tamizaje fitoquímico: La caracterización química de los metabolitos secundarios presentes en el extracto de hexano-éter de las hojas de *E. pannosa* (Standl.) Cuatrec., (14,72 g), se efectuó mediante una serie de pruebas químicas cualitativas de coloración y/o precipitación descritas por Marcano y Hasegawa, (2002) [10].

Actividad antibacteriana: Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29219), *Klebsiella*

pneumoniae (ATCC 23357), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y las proporcionó el Cepario del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

La actividad antibacteriana se evaluó de acuerdo al método de difusión en agar con disco, el ensayo se realizó con un cultivo de 18 horas de cada microorganismo en 2,5 mL de caldo Müeller-Hinton a 37°C. El inóculo bacteriano se ajustó con solución salina fisiológica al patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 (10^{6-8} UFC/mL) [11]. Cada inóculo se diseminó sobre la superficie de una placa que contenía agar Müeller-Hinton y luego se colocaron los discos (6 mm de diámetro) previamente impregnados con 10 µL del extracto, el control negativo (dimetilsulfóxido) y el disco estándar del antibiótico de referencia (Piperacilina® 100 µg; Ampicilina® 10 µg; Eritromicina® 15 µg) como control positivo para cada uno de los microorganismos.

El medio de cultivo inoculado se sometió a preincubación durante 30 minutos, posteriormente se incubaron las placas por 24 horas a temperatura de 37°C y se realizó la lectura de los halos alrededor del disco. Se consideró como resultado positivo cuando un halo de inhibición de crecimiento se observó alrededor del disco. En el caso contrario, la ausencia de halo se interpretó como resultado negativo o resistente. El diámetro de la zona de inhibición, producto de la actividad antibacteriana de las muestras se expresó en milímetros (mm) [12].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto hexano-éter de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* tuvo un rendimiento de 3,27 %, las características físicas se presentan en la Tabla 1. En referencia al tamizaje fitoquímico (Tabla 2), se evidencia que los resultados permitieron establecer la presencia de esteroides, diterpenos y triterpenos, así como la ausencia de alcaloides, saponinas, fenoles, taninos, flavonoides, quinonas, lactonas y cumarinas. Esta información se correlaciona con lo reportado por Usubillaga y cols., en el 2003, que identificaron a través de cromatografía de gases-masas (CG/EM) diversos diterpenos como el ácido kaurénico, ácido

gradiflorénico, ácido 15 α -hidroxi-kaurénico, y ácido 15 α -isovaleroxi-kaurénico en la fracción ácida del extracto hexano:éter (3:1) de las hojas de *E. pannosa* [9]. Adicionalmente, para especies de la subtribu Espeletiinae diversos investigadores han reportado la presencia de diterpenos y triterpenos [13-15], estos compuestos poseen diversas propiedades farmacológicas como anti-inflamatoria, antipirética, antibacteriana, citotóxica, antialimentaria y antiparasitaria [16-20].

TABLA 1

Características físicas del extracto hexano-éter de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Características	Extracto hexano-éter (hojas)
Aspecto	Viscoso
Color	Verde
Olor	Característico
Peso del material seco	450 g
Peso del extracto	14,72 g
Rendimiento	3,27 %

TABLA 2

Tamizaje fitoquímico del extracto hexano-éter de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Metabolitos	Pruebas	Resultados Extracto hexano-éter (Hojas)
Alcaloides	Mayer	-
	Dragendorff	-
	Wagner	-
Esteroides	Liebermann-Burchard	+++ (verde)
Triterpenos		++ (rojo)
Saponinas	Espuma	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃ 1 %	-
Taninos	Gelatina 1 %	-
Flavonoides	Shinoda	-
Quinonas y/o Antraquinonas	NH ₄ OH conc.	-
	H ₂ SO ₄ conc.	-
Cumarinas	NH ₄ OH conc.	-
Lactonas sesquiterpénicas	NaOH al 10 %	-
Glicósidos cardiotónicos	Keller-Kiliani	-
Diterpenos	Acetato de cobre	+ verde fugaz

Leyenda: - (ausente); + (escaso); +++ (abundante).

La actividad antibacteriana del extracto hexano-éter de las hojas de la especie *Espeletiopsis pannosa* (Tabla 3) fue evaluada mediante la técnica de difusión en agar con disco frente a bacterias ATCC grampositivas y gramnegativas, en una

concentración de 1000 ppm. Los ensayos realizados indicaron que el extracto fue activo frente a *S. aureus*, *E. coli* y *K. pneumoniae* con halos de inhibición de 7 mm para cada bacteria, mientras que *E. faecalis* y *P. aeruginosa* fueron resistentes. Estudios previos sobre la actividad antibacteriana del género *Espeletiopsis* señalan que

los aceites esenciales de las hojas de *E. angustifolia* y *E. pozoensis* fueron activos frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, [21,22], sin embargo, este es el primer reporte de actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *E. pannosa*.

TABLA 3

Actividad antibacteriana del extracto hexano-éter de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec.

Microorganismos	Halos de Inhibición (mm*)			
	Extracto EHHE (1000 ppm)	Antibióticos		
		Pip	Amp	Eri
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7*	-	-	23*
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0	-	17*	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 23357	7*	21*	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	7*	21*	-	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0	21*	-	-

Leyenda: EHHE: extracto de hojas hexano-éter, Pip: Piperacilina® 100 µg; Amp: Ampicilina® 100 µg; Eri: Eritromicina® 15 µg; ppm: partes por millón; mm*: milímetros de los halos de inhibición.

CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico preliminar del extracto hexano-éter de las hojas de la *Espeletiopsis pannosa* (Standl.) Cuatrec., permitió identificar cualitativamente la presencia de compuestos de origen terpénico (diterpenos, triterpenos y esteroides). En la actividad antibacteriana presentaron sensibilidad las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a una concentración del extracto de 1000 ppm. Este es el primer estudio de la composición química y actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Espeletiopsis pannosa* Cuatrec, lo cual representa un aporte para la fitoquímica del género *Espeletiopsis* que incentiva futuras investigaciones sobre esta especie endémica de Los Andes venezolanos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal del Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” de la Facultad de Farmacia

y Bioanálisis, así como al Laboratorio de Actinomicetos del Instituto, al herbario MERF “Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, y al Ceparió del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A.P.G. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 2003; 141: 399-436.
- [2] Padilla F, Díazgranados M, Oliveira T, Branquinho T, Chagas D, Da Costa F. Chemistry of the subtribe Espeletiinae (Asteraceae) and its correlation with phylogenetic data: an in silico chemosystematic approach. Bot. J. Linn. Soc. 2017; XX: 1-29. <https://doi/10.1093/botlinnean/box078/4762254>
- [3] Cuatrecasas J. A new sub-tribe in the Heliantheae (Compositae): Espeletiinae

- . Phytologia. 1976; 35(1): 43-61.
- [4] Díaz S, Rodríguez B. Nuevas Especies Colombianas de *Espeletiopsis* Cuatrec. y de *Espeletia* Mutis ex Humb. & Bonpl. (Asteraceae, Heliantheae, Espeletiinae). Rev. Acad. Colomb. Ci. Exact. 2010; 34(133): 441-454.
- [5] Cuatrecasas J. Clave provisional de las especies del Género *Espeletiopsis* Cuatrec. (Espeletiinae, Compositae). Anales Jard. Bot. 1996; 54(1): 370-377.
- [6] Badillo M. Lista actualizada de las especies de la familia Compuestas (Asteraceae) de Venezuela. Ernstia. 2001; 11: 147-215.
- [7] Aristeguieta L. Compositae. Flora de Venezuela. 1964; 10(1): 43-61.
- [8] Hidalgo D, Ricardi M, Gaviria J, Estrada J. Contribución a la Etnofarmacología de los Páramos Venezolanos. Ciencia. 1999; 7(1): 23-32
- [9] Usubillaga A, Romero M, Aparicio R. Kaurenic Acid In Espeletiinae. Acta Hort. 2003; 597: 129-130.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.597.17>
- [10] Marcano D, y Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. Consejo Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela: Venezuela. 2002.
- [11] Narváez S, Gómez M, Martínez M. Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados a partir de sedimentos del Caribe colombiano. Bol. Investig. Mar. Costeras-Invenmar. 2008; 37(1): 63-77.
- [12] Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th. 2020. [Página Web] 2020 [acceso: 5 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf.
- [13] Usubillaga A. Etnobotánica de los frailejones: aspectos químicos y medicinales. En Naranjo P. Etnomedicina y Etnobotánica, avances en la Investigación. Edición Abya-Yala. Universidad Andina Simón Bolívar, Quito Ecuador. 2010. p 109-156.
- [14] Meccia G, Quintero P, Rojas L, Usubillaga A, Carmona J. Análisis de los ácidos kaurénicos presentes en *Espeletiopsis angustifolia* Cuatrec. de los Andes venezolanos. Av. Qui. 2010; 5(1): 45-49. www.saber.ula.ve/avancesenquimica.
- [15] Pinto E, Torres K. Estudio Fitoquímico y Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica de la *Coespeletia timotensis* Cuatrec. (Trabajo Pregrado). Mérida Venezuela. Universidad de Los Andes. 2013.
- [16] Ghisalberti E. The biological activity of naturally occurring kaurene diterpenes. Fitoterapia. 1997; 68(1): 303-325.
- [17] Baptista J, Monsalve M, Alonso M, Ávila J, Usubillaga A. Ensayos de actividad antialimentaria sobre *Tribolium castaneum* y *Sitophilus oryzae* de algunos derivados del *ent*-kaureno. Ciencia. 2007; 15(2): 248-258.
- [18] Hueso-Falcón I, Cuadrado I, Cidre F, Amaro J, Ravelo A, Estévez A, de las Heras B, Hortelano S. Synthesis and anti-inflammatory activity of the *ent*-kaurene derivatives. Eur. J. Med. Chem. 2011; 46: 1291-1305. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.01.052>.
- [19] Cordero de Rojas Y, Ustáriz L, Araujo L, Usubillaga A, Rojas F, Moujir L. Actividad antibacteriana de diterpenos del kaurano aislados de *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec. Rev. Fac. Farm. 2017; 59(2): 03-07.
- [20] Cordero Y, Lucena M, Araujo L, Usubillaga A, †Rojas L, Aparicio R, Laila-Moujir L, Ustáriz F. Efecto citotóxico de diterpenos derivados del ácido *ent*-kaureno aislados de *Coespeletia moritziana* (Sch. Bip. ex Wedd.) Cuatrec. Blacpma. 2022; 21(3): 404-417. <https://doi.org/10.37360/blacpma.22.21.3.24>.
- [21] Meccia G, Rojas L, Velasco J, Díaz T, Usubillaga A. Composition and antibacterial Screening of the Essential Oils of Leaves and Roots of *Espeletiopsis angustifolia* Cuatrec. Nat. Prod. Comm. 2007; 2: 1221-1224.
- [22] Aparicio R, Rojas L, Velasco J, Vega C, Usubillaga A. Caracterización química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Espeletiopsis pozoensis* Cuatrec. (Cuatrec). Rev. Latinoamer. Quím. 2021; 48(1-

3): 7-14.

[23] Villa N, Lozoya E, Pacheco Y. Kaurenoic acid: a diterpene with a wide range of biological activities. *Stud. in Nat. Prod. Chem.* 2016; 51: 151-174.

Rosa Lizbeth Aparicio Zambrano: Dra. En Química Aplicada. MSc. En Química de Medicamentos, Farmacéutico. Investigador en Ciencias Básicas, Naturales y Aplicadas, adscrita al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” Correo: apariciorosa12@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5020-0954>.

María Celena Cortez Pérez: Licenciada en Bioanálisis. Correo: celenacortez25@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0009-0000-6775-5983>.

Ysbelia Miyeli Obregón Díaz: Dra. En Química de Medicamentos. Farmacéutico. Profesora Agregado adscrita al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” Correo: ysbeliaobregon@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6152-6696>.

Pérez Colmenares Alida Alejandra Dra. En Química Aplicada. MSc. En Química de Medicamentos, Farmacéutico. Profesora Asociado adscrita al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” alidaperezc@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-8910-4663>.

Yndra Elena Cordero: Dra. En Ciencias Aplicadas. MSc. En Biología y Salud. Farmacéutico. Profesora Titular adscrita al Departamento de Bioanálisis Clínico yndracpdero@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7015-2796>.

José Emilio Salazar Vivas: Técnico Medio en Mecánica de Producción. Auxiliar del Laboratorio adscrito al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0001-8077-7386>

Villasmil Thayded Oleida: Dra. En Química Aplicada. Farmacéutico. Profesor Asistente adscrita al departamento de Farmacia Galénica. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0009-0006-8563-2067>.

†**Luis Beltrán Rojas Fermín:** Dr. En Química Orgánica. MSc. En Química de Medicamentos. Farmacéutico. Profesor Titular adscrito al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0003-4508-1927>.

Alfredo Nicolás Usubillaga Del Hierro: Dr. En Química. Ing. Químico. Profesor Titular Jubilado adscrito al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”. Correo: usubi80@gmail.com. **Orcid ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2913-5684>.

NORMAS EDITORIALES

La Revista de la Facultad de Farmacia (Rev Fac Farm) es una publicación editada por la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, Mérida, República Bolivariana de Venezuela. La revista es arbitrada e indizada y tiene como objetivo publicar Trabajos Originales (inéditos producto de estudios terminados), Revisiones, Reporte de Casos Clínicos, Comunicaciones y Cartas al Editor, que versen sobre las siguientes áreas del conocimiento: Etnobotánica, Química Orgánica, Química Inorgánica, Química Analítica, Química Medicinal, Fitoquímica, Ciencias de los Alimentos, Galénica, Tecnología Industrial, Análisis de Medicamentos, Física, Físicoquímica, Estadística Aplicada a las Ciencias de la Salud, Microbiología, Parasitología, Inmunología, Hematología, Farmacología, Toxicología, Fisiología, Citología, Farmacocinética, Mercadotecnia, Historia de la Farmacia y Bioanálisis, Farmacognosia, Nutrición en Salud Pública y Biotecnología. Los manuscritos deben ser concisos, correctos en su estilo y escritos en idioma español, inglés o portugués. El Comité Editorial (CE) tiene prevista la publicación de un volumen y dos números al año, con la extensión que se estime conveniente.

ENVÍO DEL MANUSCRITO

Los autores deben enviar el archivo del manuscrito en programa "Word for Windows" a través de los siguientes correos: revfarm@ula.ve o revfarmacia@gmail.com. Es necesario que el autor principal envíe una comunicación al Editor, en donde solicita la consideración del material adjunto para la publicación en alguna de las secciones de la Revista, con indicación expresa, de tratarse de un trabajo original, de no haber sido publicado excepto en forma de resumen y que sólo ha sido enviado a la Revista de la Facultad de Farmacia. Además, debe incluir la autorización, donde todos los autores aceptan con su firma, que han participado activamente en el desarrollo y ejecución de dicha investigación, y que conocen que está siendo enviado a publicación sin percibir remuneración alguna.

SISTEMA DE ARBITRAJE

Todos los trabajos serán sometidos a consideración del CE de la Revista, el cual decidirá si el trabajo debe ser enviado a arbitraje o es devuelto por no cumplir con las normas editoriales establecidas. El arbitraje de doble ciego será realizado por al menos tres expertos en el área objeto de la comunicación. Se cuenta con la participación de especialistas, provenientes de diferentes instituciones locales, nacionales, así como internacionales. En caso de existir sugerencias por parte de los evaluadores para mejorar la calidad de los trabajos, serán devueltos a sus autores para las debidas correcciones, las cuales deben cumplirse, siendo posible apelar con la debida justificación en cada caso. Para facilitar el proceso de arbitraje, los autores deberán enviar una lista de seis posibles árbitros (Nacionales e Internacionales) con sus respectivas direcciones de correo electrónico.

NORMAS EDITORIALES

Los textos deben estar compuestos por las siguientes secciones:

Revisiones: Según los criterios establecidos por el CE, para incluir revisiones en la Revista de la Facultad de Farmacia se debe cumplir con las siguientes condiciones:

- Al menos uno de los autores debe tener un mínimo de tres trabajos sobre el tema, publicados en revistas indexadas y arbitradas y por lo menos una de esas revistas debe ser Tipo A.
- Las revisiones pueden ser solicitadas al autor (es) por el CE o propuestas por el autor (es) al CE, sobre temas seleccionados. Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, cuerpo o desarrollo, conclusión (es), referencias bibliográficas, de acuerdo a las mismas instrucciones de los trabajos originales.

Trabajos originales: Se le da prioridad a los artículos originales. Estructura: Resumen, palabras clave, abstract, key words, introducción, material y métodos, resultados, discusión, conclusión (es), agradecimientos (prescindible) y referencias bibliográficas,

REGLAMENTO PARA EL ARBITRAJE

CAPÍTULO 1

Disposiciones Fundamentales

Artículo 1. El presente **REGLAMENTO** tiene por objeto normar los principios rectores del Arbitraje de los Trabajos de Investigación, enviados por autores al Editor para su aceptación en la Revista de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes.

Artículo 2. La recepción de un Trabajo de Investigación por parte del Editor, no implica por fuerza su aceptación para ser publicado en cualquiera de los volúmenes de la Revista de la Facultad que se editen en un año. Además, no se recibirán trabajos para arbitraje que no estén acompañados de un oficio dirigido al Editor de la Revista, firmado por el autor (o responsable de una publicación en caso de ser colectiva).

Artículo 3. El Editor podrá recibir trabajos de investigación para su Arbitraje de cualquier autor de algunas de las Facultades de la Universidad de Los Andes, en primera instancia. En segundo lugar, de cualquier autor adscrito a cualquier universidad pública o privada del país. En tercer lugar, de autores de universidades extranjeras con preeminencia de América Latina.

Artículo 4. El Editor se reserva el Derecho de Admisión de los trabajos con base en lo establecido en el presente **REGLAMENTO**, y en las Instrucciones para los Autores, publicada en cada volumen editado de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 5. El Editor no recibirá para su consideración de arbitraje trabajos divulgativos en cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 6. El Editor aceptará para su arbitraje trabajos de investigación documental con aportes sustanciales al conocimiento científico de cualquiera de las áreas de competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia, y que se ajusten a lo estipulado en las Instrucciones para los autores.

CAPÍTULO 2

De los Árbitros y de su Competencia

Artículo 7. El número de miembros del Comité de Arbitraje estará supeditado a las áreas de

competencia de la Revista de la Facultad de Farmacia. En todo caso, algunos miembros del Comité podrán fungir como representantes hasta de tres áreas del conocimiento, de acuerdo con su formación y experiencia científica, y será potestad del Editor su designación.

Artículo 8. Los miembros del Comité de Arbitraje podrán ser miembros del personal docente y de investigación de la Universidad de Los Andes, o de cualquier otra universidad pública o privada de la República de reconocida actividad científica y académica, con estudios de cuarto nivel.

Artículo 9. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje reconocidos investigadores de universidades extranjeras, cuyas instituciones mantengan convenios de cooperación y de intercambio con la Universidad de Los Andes.

Artículo 10. Podrán ser miembros del Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia investigadores sin estudios de cuarto nivel, siempre que hayan sido reconocidos por su actividad de investigación dentro o fuera de la institución a la que estén adscritos.

Artículo 11. El Editor seleccionará con base en lo expuesto en los Artículos: 7, 8 y 9 del presente **REGLAMENTO**, a los investigadores que conformarán el Comité de Arbitraje de la Revista de la Facultad de Farmacia por un periodo no mayor de dos años consecutivos, pudiendo solicitar a motu proprio su reinserción dentro del Comité a algunos de los miembros salientes o por iniciativa de éstos.

Artículo 12. Son funciones de los árbitros, las siguientes:

a) Evaluar los trabajos de investigación de sus áreas de competencia.

b) Enviar al Editor una respuesta por escrito del trabajo considerado, en un plazo no mayor de 30 días, contados a partir de la recepción del texto.

c) Aprobar o improbar los trabajos recibidos, con base a argumentos científicos proclives a ser revisados.

d) No establecer con los autores de los trabajos ninguna comunicación referida al texto que evalúa, que conlleve interferencias y subjetividades en el

proceso. Aplicar en la evaluación argumentos científicos objetivos que permita al Editor a posterior iniciar un proceso de retroalimentación positiva con los autores, a los fines de la excelencia y transparencia del trabajo científico, y de la proyección de la Revista de la Facultad de Farmacia.

e) Aplicar en la evaluación los parámetros especificados en la Guía para los Árbitros.

Artículo 13. Los árbitros tienen derecho a recibir a cambio de su trabajo de evaluación, una constancia expedida por el Editor, a los fines de su inclusión en procesos de reconocimiento de los méritos académicos y científicos de los miembros del personal docente y de investigación de las universidades representadas en el Comité de Arbitraje.

CAPÍTULO 3

Disposiciones Finales

Artículo 14. El Editor podrá sustituir en cualquier momento a algún miembro del Comité de Arbitraje, cuando éste no haya cumplido con lo dispuesto en el presente **REGLAMENTO**. El Editor procederá de inmediato a sustituir al miembro excluido con base a lo dispuesto en los Artículos: 7, 8 y 9 del presente **REGLAMENTO**, y a notificar de inmediato su remoción al saliente.

Artículo 15. Los autores tendrán derecho a solicitar reconsideración de la evaluación de su trabajo de investigación cuando haya resultado improbadado por un miembro del Comité de Arbitraje. A tales efectos, el Editor enviará el trabajo en cuestión a ser evaluado a otro árbitro. En caso de resultar positiva la segunda evaluación, el Editor se reservará el derecho de publicar o no el trabajo sin más opiniones de expertos, con base a la disponibilidad de espacio en la Revista en el volumen que juzgue conveniente, y así se lo hará saber al autor.

Artículo 16. Con base en lo dispuesto en el Artículo anterior, las decisiones de los árbitros son inapelables y de obligatorio acatamiento por parte del autor.

Artículo 17. Los miembros del Comité de Arbitraje no percibirán remuneración económica alguna por su trabajo.

Artículo 18. Los trabajos de investigación recibirán respuesta escrita a partir de los 60 días hábiles de su recepción.

Artículo 19. Si el informe de arbitraje es positivo para un trabajo en primera instancia, el Editor se compromete a incluirlo en el volumen inmediatamente próximo de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 20. El Editor se arroga la potestad de realizar observaciones de forma a los trabajos recibidos antes de ser enviados a arbitraje, de tal manera que el autor se compromete a acatarlas sin desmedro de la trascendencia o alcance científico del trabajo.

Artículo 21. El autor se hace responsable de cualquier errata de forma y de fondo que esté incluida en el original enviado al Editor; y éste no se compromete a dar Fe de Errata en tales circunstancias.

Artículo 22. El Editor se compromete a dar Fe de Errata en aquellas circunstancias en que por inadvertencia o fallas técnicas se haya incurrido en un error no incluido en el original (papel y electrónico) enviado para su consideración por el autor. Tal procedimiento se patentizará en el volumen inmediatamente siguiente a la emisión del error, siempre y cuando el autor se lo haga saber al Editor por escrito tres meses antes de la edición del siguiente volumen de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Artículo 23. El Editor no se compromete a expedir constancias de trabajos recibidos sin que haya finalizado el proceso de arbitraje y se cuente con un informe escrito y firmado por el árbitro.

Artículo 24. Lo establecido en el presente **REGLAMENTO** será difundido en la Revista de la Facultad de Farmacia, de tal forma, que tanto autores como árbitros se solidaricen con lo aquí expuesto.

ÍNDICE ACUMULADO

Volumen 62(Edición Especial)

Año 2020

Perfil fitoquímico, actividad biológica y fotoprotectora de las flores de *Aldama dentata* La Llave et Lex.

Isla Marylenlid, Pérez Alida, Obregon Ysbelia, Aparicio Rosa, Cordero Yndra, Díaz Clara, Isla José, Chacón Carmen, Fernández Jhender, Rojas-Fermín Luis.

Análisis fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana de fracciones de diferentes polaridades obtenidas de *Vismia baccifera* (L.) Triana & Planch y *Vismia macrophylla* Kunth.

Buitrago-Díaz Alexis Alberto, Rojas-Vera Janne, Velasco-Carrillo Judith.

Valoración de dietas a base de *Leucaena leucocephala* (Lam.), *Machaerium* sp y *Glycine max* (Soya) para la alimentación de alevines de *Colossoma macropomum* (cachama negra).

Visbal Tomas, Morillo Marielba, Rial Leandra, Betancourt Carlos, Medina Ana Luisa.

Actualización de la imagen de la Revista de la Facultad de Farmacia.

Rojas-Vera Janne, Buitrago-Díaz Alexis, Meccia Gina, Rondón María Eugenia, Rojas Julio

Volumen 63(1)

Año 2021

Actividad antioxidante y garrapaticida de los extractos de las hojas de *Bixa orellana* L.

Chacón Arian, Morillo Marielba, Rondón María, Hernández Vanessa, Carmona Juan, Visbal Tomás.

Composición química y actividad biológica de los aceites esenciales de *Piper marginatum* Jacq. y *Piper tuberculatum* Jacq. de Ecuador.

Moncayo Shirley, Rondón María, Araujo Liliana, †Rojas Luis, Cornejo Xavier, Guamán Walter, Jaramillo Soraya.

Microbiología del agua perteneciente al lago cratérico volcánico Cuicocha. Imbabura. Ecuador: Estudio inicial.

González Marco, Alarcón Diego, Araque Judith, Viteri Francisco, Villacis Luis, Escobar Sandra, Araujo Liliana, Medina Gerardo, Andueza Félix.

Estudio preliminar de la calidad nutracéutica y autenticidad de la miel con base en parámetros bioquímicos y capacidad antioxidante.

Pérez-Pérez Elizabeth, Daboin María, Pérez Mariel, Peña-Vera María, Dávila Juan, Sulbarán-Mora Miguel.

Volumen 63(2)

Año 2021

Informe de la citología mamaria.

Toro de Méndez Morelva.

Textura y análisis descriptivo cuantitativo de galletas elaboradas con harinas de granos fermentados de *Phaseolus vulgaris* o *Cajanus cajan*.

Vivas Odry, Sangronis Elba.

Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de los bulbos de *Crinum moorei* Hook F.

Rojas-Vera Janne, Buitrago-Díaz Alexis Alberto, Velasco-Carrillo Judith.

Calidad fisicoquímica de los lagos Colta y Cuicocha ubicados en la alta montaña del Ecuador.

González Marco, Vásquez Paola, Alarcón Diego, Araque Judith, Viteri Francisco, Villacis Luis, Pinto Gustavo, Escobar Sandra, Medina Gerardo, Andueza Félix.

Volumen 64(1)

Año 2022

Actividad antioxidante y composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb de Ecuador.

Toaquiza-Aguagallo Cecilia, Cando-Brito Verónica, †Rojas-Fermín Luis, Pérez-Colmenares Alida, Aparicio-Zambrano Rosa, Obregón-Díaz Ysbelia

Actividad antioxidante de los extractos alcohólicos de los frutos de las especies *Manilkara achras* (Mill.) Fosberg (níspero); *Averrhoa carambola* L. (tamarindo chino) y *Spondias mombin* L. (jobo).

Tolosa Luis, Ramírez Jesús, Rondón María.

Derivados hemisintéticos del *ent*-kaurenol y evaluación de su actividad antimicrobiana.

Hamdan-Sánchez Mager, †Rojas-Fermín Luis, Obregón-Díaz Ysbelia, Aparicio-Zambrano Rosa, Pérez- Colmenares Alida, Cordero Yndra, Díaz Clara, Da Silva-. Rojas Jossblerys, Usubillaga Alfredo.

Análisis químico cualitativo y actividad ecotóxica de la especie *Tristerix longibracteatus* (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) colectada en Chimborazo, Ecuador.

Espinoza Carlos, Rojas Janne, Buitrago-Díaz Alexis, Morillo Marielba, Visbal Tomas.

Volumen 64(2)

Año 2022

Desarrollo y validación de una metodología para el control de calidad microbiológico de fitofármacos y fitomedicamentos.

Rojas-Gelves Clody, Pérez-Colmenares Alida.

Disbiosis cervico-vaginal en la pesquisa citológica de cáncer de cuello uterino.

Erazo-Nieto Greca, Toro de Méndez Morelva.

Estudio fitoquímico preliminar, evaluación de las actividades antioxidante y ecotóxica de los extractos metanólicos de las partes aéreas de *Physalis peruviana* L. (SOLANACEAE).

Contreras Carlos, Morillo Marielba, Visbal Tomas.

Distribución del contenido de cadmio en los diferentes componentes de cigarrillos comercializados en Venezuela después de fumados.

Guillén Juan Carlos, Petit de Peña Yaneira, Vicuña-Fernández Nelson, Briceño Luisa Carolina

Volumen 65(1)

Año 2023

Análisis proximal de la semilla de Saní (*Brassica* spp).

Ramírez-Gutiérrez Carmen, Fernández-Rojas Roxana, Ostojich-Cuevas Zoitza, Arraiz-Budovalchew Issis, Balbuena-Guillén José, Quintero-Parra Liandry, Zerpa Sandra.

Especies de *Pseudomonas* y sus perfiles de resistencia a los antibióticos en ecosistemas acuáticos del Ecuador.

Andueza Felix, Araque Judith, Acuña Jessica, Escobar Jessica, González Marco, Escobar Sandra, González-Romero Ana Carolina, Medina Gerardo.

Valor nutricional y propiedades tecnofuncionales de la harina del fruto completo del chachafruto (*Erythrina edulis*).

Vivas Odry, Vielma Rosa, Matheus Dalia, Rocco Valeria.

Breve historia de la medicina herbaria y la flora útil.

Gil Otaiza Ricardo.

Volumen 65(2)

Año 2023

Los flavonoides: Su importancia.

Morales-Méndez Antonio.

Plantas de utilidad común del Jardín Botánico de Mérida.

Soto Ciro, Medina José.

Actividad antioxidante, larvicida, acaricida y antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Piper marginatum* y *Piper tuberculatum* de Ecuador.

Moncayo Shirley, Rondón María Eugenia, Cornejo Xavier.

Calidad bacteriológica del aire en ambientes académicos administrativos de la Universidad Central del Ecuador.

González-Escudero Marco, Chavez-Chamorro Andrea, Araque-Rangel Judith, Andueza-Leal Félix.



**CONSEJO DE DESARROLLO CIENTÍFICO
HUMANÍSTICO, TECNOLÓGICO Y DE LAS ARTES
Cdchta**



El **Cdchta** es el organismo encargado de promover, financiar y difundir la actividad investigativa en los campos científicos, humanísticos, sociales y tecnológicos.

Objetivos Generales:

El **Cdchta**, de la Universidad de Los Andes, desarrolla políticas centradas en tres grandes objetivos:

- Apoyar al investigador y su generación de relevo.
- Vincular la investigación con las necesidades del país.
- Fomentar la investigación en todas las unidades académicas de la ULA, relacionadas con la docencia y con la investigación.

Objetivos Específicos:

- Proponer políticas de investigación y desarrollo científico, humanístico y tecnológico para la Universidad. Presentarlas al Consejo Universitario para su consideración y aprobación.
- Auspiciar y organizar eventos para la promoción y la evaluación de la investigación.
- Proponer la creación de premios, menciones y certificaciones que sirvan de estímulo para el desarrollo de los investigadores.
- Estimular la producción científica.

Funciones:

- Proponer, evaluar e informar a las

Comisiones sobre los diferentes programas o solicitudes.

- Difundir las políticas de investigación.
- Elaborar el plan de desarrollo.

Estructura:

- Directorio: Vicerrector Académico, Coordinador del **Cdchta**.
- Comisión Humanística y Científica.
- Comisiones Asesoras: Publicaciones, Talleres y Mantenimiento, Seminarios en el Exterior, Comité de Bioética.
- Nueve subcomisiones técnicas asesoras.

Programas:

- Proyectos.
- Seminarios.
- Publicaciones.
- Talleres y Mantenimiento.
- Apoyo a Unidades de Trabajo.
- Equipamiento Conjunto.
- Promoción y Difusión.
- Apoyo Directo a Grupos (ADG).
- Programa Estímulo al Investigador (PEI).
- PPI-Emeritus.
- Premio Estímulo Talleres y Mantenimiento.
- Proyectos Institucionales Cooperativos.
- Aporte Red Satelital.
- Gerencia.

**Alejandro Gutiérrez
Coordinador General**

www.ula.ve/cdcht / E-mail: cdcht@ula.ve
Telf. 0274-2402785 / 2402686

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

Decano(e)

Dra. Angela Lugo

Director de la Escuela de Bioanálisis

MSc. María Evelyn Alviarez Vargas

Director de la Escuela de Farmacia

MSc. Robert Lobatón

Director del Instituto de Investigaciones

Dra. Yndra Cordero

Director de la Oficina de Relaciones

Interinstitucionales

Dr. José Nelson Aranguren

La Revista de la Facultad de Farmacia, posee acreditación del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes. Universidad de Los Andes-Venezuela (CDCHTA-ULA).

Esta publicación está indizada en REVENCYT, Sistema de Publicaciones Scielo, Periódica (UNAM-México), IMBIOMED, Base de datos LILACS producida por BIREME y LIVECS, y Latindex México.

Incluida en el Registro de Publicaciones Científicas y Tecnológicas del FONACIT.

ISSN 0543- 517-X Depósito Legal pp 1958 02 ME 1003

ISSN 2244-8845 Electrónico Depósito Legal ppi 2012 02 ME 4102.

La Revista de la Facultad de Farmacia se exime de compromisos con la opinión y enfoques vertidos por los autores de los materiales publicados en ella. Queda prohibida, sin la autorización del Comité Editorial, la reproducción total o parcial de los trabajos incluidos en este volumen, por cualquier medio. La misma asegura que los editores, autores y árbitros cumplen con las normas éticas internacionales durante el proceso de arbitraje y publicación. Del mismo modo aplica los principios establecidos por el Comité de Ética en Publicaciones Científicas (COPE). Igualmente, todos los trabajos están sometidos a un proceso de arbitraje y de verificación por plagio.

COMITÉ EDITORIAL

EDITORA

Dra. Janne Rojas

Instituto de Investigaciones

EDITORES HONORARIOS

Dr. Alfredo Usubillaga

Instituto de Investigaciones

Dr. Ricardo Gil Otaiza

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

Dra. Beatriz Nieves Blanco

Dpto. de Microbiología y Parasitología

CUERPO EDITORIAL

Dr. Alexis A Buitrago Díaz

(Diagramación)

Dpto. de Análisis y Control

Dra. María Eugenia Rondón

Dpto. de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos

MSc. Gina Meccia,

Instituto de Investigaciones

Dr. Richard Nuñez

Dpto. de Toxicología

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

Dirección de Canje (Postal address)

Prolongación Av. Humberto Tejera, Sector Campo de Oro, detrás del IAHULA, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Edificio Carlos Edmundo Salas, 1er piso. ULA. Mérida. República Bolivariana de Venezuela. Código Postal 5101 Teléfono: +58-274-2403561.

Fax: +58-274-2403568

Dirección electrónica:

revfarm@ula.ve o revfarmacia@gmail.com



REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Universidad de Los Andes Facultad de Farmacia y Bioanálisis Biblioteca "Ismael Valero"

Esta versión digital de la revista de la Facultad de Farmacia, se realizó cumpliendo con los criterios y lineamientos establecidos para la edición electrónica en el año 2020.

Publicada en el repositorio institucional SaberULA

Universidad de Los Andes-Venezuela

www.saber.ula.ve, info@saber.ula.ve.

