

ISSN 2410-3551

Volumen 5, Número 15 — Abril — Junio - 2018

Revista de Ciencias de la Salud

ECORFAN®

ECORFAN-Bolivia

Editora en Jefe

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

Redactor Principal

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

Asistente Editorial

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC

SORIANO-VELASCO, Jesús. BsC

Director Editorial

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC

Editor Ejecutivo

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

Editores de Producción

ESCAMILLA-BOUCHAN, Imelda. PhD

LUNA-SOTO, Vladimir. PhD

Administración Empresarial

REYES-VILLO, Angélica. BsC

Control de Producción

RAMOS-ARANCIBIA Alejandra. BsC

DÍAZ-OCAMPO Javier. BsC

Revista de Ciencias de la Salud, Volumen 5, Número 15, de Abril a Junio 2018, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Bolivia. Loa 1179, Cd. Sucre. Chuquisaca, Bolivia. WEB: www.ecorfan.org, revista@ecorfan.org. Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD. Co-Editor: IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC. ISSN-2410-3551. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN, Imelda, LUNA-SOTO, Vladimir, actualizado al 30 de Junio 2018.

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

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Revista de Ciencias de la Salud

Definición del Research Journal

Objetivos Científicos

Apoyar a la Comunidad Científica Internacional en su producción escrita de Ciencia, Tecnología en Innovación en el Área de Medicina y Ciencias de la Salud, en las Subdisciplinas Ciencias clínicas, Ciencias de la nutrición, Farmacología, Medicina interna, Medicina general, Medicina interna, Medicina preventiva.

ECORFAN-México S.C es una Empresa Científica y Tecnológica en aporte a la formación del Recurso Humano enfocado a la continuidad en el análisis crítico de Investigación Internacional y está adscrita al RENIECYT de CONACYT con número 1702902, su compromiso es difundir las investigaciones y aportaciones de la Comunidad Científica Internacional, de instituciones académicas, organismos y entidades de los sectores público y privado y contribuir a la vinculación de los investigadores que realizan actividades científicas, desarrollos tecnológicos y de formación de recursos humanos especializados con los gobiernos, empresas y organizaciones sociales.

Alentar la interlocución de la Comunidad Científica Internacional con otros centros de estudio de México y del exterior y promover una amplia incorporación de académicos, especialistas e investigadores a la publicación Seriada en Nichos de Ciencia de Universidades Autónomas - Universidades Públicas Estatales - IES Federales - Universidades Politécnicas - Universidades Tecnológicas - Institutos Tecnológicos Federales - Escuelas Normales - Institutos Tecnológicos Descentralizados - Universidades Interculturales - Consejos de CyT - Centros de Investigación CONACYT.

Alcances, Cobertura y Audiencia

Revista de Ciencias de la Salud es un Research Journal editado por ECORFAN-México S.C en su Holding con repositorio en Bolivia, es una publicación científica arbitrada e indizada con periodicidad trimestral. Admite una amplia gama de contenidos que son evaluados por pares académicos por el método de Doble-Ciego, en torno a temas relacionados con la teoría y práctica de la Ciencias clínicas, Ciencias de la nutrición, Farmacología, Medicina interna, Medicina general, Medicina interna, Medicina preventiva con enfoques y perspectivas diversos, que contribuyan a la difusión del desarrollo de la Ciencia la Tecnología e Innovación que permitan las argumentaciones relacionadas con la toma de decisiones e incidir en la formulación de las políticas internacionales en el Campo de las Medicina y Ciencias de la Salud. El horizonte editorial de ECORFAN-México® se extiende más allá de la academia e integra otros segmentos de investigación y análisis ajenos a ese ámbito, siempre y cuando cumplan con los requisitos de rigor argumentativo y científico, además de abordar temas de interés general y actual de la Sociedad Científica Internacional.

Consejo Editorial

SOLORZANO - MATA, Carlos Josué. PhD
Université des Sciences et Technologies de Lille

TREVIÑO - TIJERINA, María Concepción . PhD
Centro de Estudios Interdisciplinarios

DIAZ - OVIEDO, Aracely. PhD
University of Nueva York

GARCÍA - REZA, Cleotilde. PhD
Universidad Federal de Rio de Janeiro

SERRA - DAMASCENO, Lisandra. PhD
Fundação Oswaldo Cruz

LERMA - GONZÁLEZ, Claudia. PhD
McGill University

MARTINEZ - RIVERA, María Ángeles. PhD
Instituto Politécnico Nacional

DE LA FUENTE - SALCIDO, Norma Margarita. PhD
Universidad de Guanajuato

PÉREZ - NERI, Iván. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

Comité Arbitral

CARRETO - BINAGHI, Laura Elena. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

ALEMÓN - MEDINA, Francisco Radamés. PhD
Instituto Politécnico Nacional

BOBADILLA - DEL VALLE, Judith Miriam. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

MATTA - RIOS, Vivian Lucrecia. PhD
Universidad Panamericana

BLANCO - BORJAS, Dolly Marlene. PhD
Instituto Nacional de Salud Pública

NOGUEZ - MÉNDEZ, Norma Angélica. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

MORENO - AGUIRRE, Alma Janeth. PhD
Universidad Autónoma del Estado de Morelos

SÁNCHEZ - PALACIO, José Luis. PhD
Universidad Autónoma de Baja California

RAMÍREZ - RODRÍGUEZ, Ana Alejandra. PhD
Instituto Politécnico Nacional

Cesión de Derechos

El envío de un Artículo a Revista de Ciencias de la Salud emana el compromiso del autor de no someterlo de manera simultánea a la consideración de otras publicaciones seriadas para ello deberá complementar el Formato de Originalidad para su Artículo.

Los autores firman el Formato de Autorización para que su Artículo se difunda por los medios que ECORFAN-México, S.C. en su Holding Bolivia considere pertinentes para divulgación y difusión de su Artículo cediendo sus Derechos de Obra.

Declaración de Autoría

Indicar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo en la participación del Artículo y señalar en extenso la Afiliación Institucional indicando la Dependencia.

Identificar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo con el Número de CVU Becario-PNPC o SNI-CONACYT- Indicando el Nivel de Investigador y su Perfil de Google Scholar para verificar su nivel de Citación e índice H.

Identificar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo en los Perfiles de Ciencia y Tecnología ampliamente aceptados por la Comunidad Científica Internacional ORC ID - Researcher ID Thomson - arXiv Author ID - PubMed Author ID - Open ID respectivamente

Indicar el contacto para correspondencia al Autor (Correo y Teléfono) e indicar al Investigador que contribuye como primer Autor del Artículo.

Detección de Plagio

Todos los Artículos serán testeados por el software de plagio PLAGSCAN si se detecta un nivel de plagio Positivo no se mandara a arbitraje y se rescindirá de la recepción del Artículo notificando a los Autores responsables, reivindicando que el plagio académico está tipificado como delito en el Código Penal.

Proceso de Arbitraje

Todos los Artículos se evaluarán por pares académicos por el método de Doble Ciego, el arbitraje Aprobatorio es un requisito para que el Consejo Editorial tome una decisión final que será inapelable en todos los casos. MARVID® es una Marca de derivada de ECORFAN® especializada en proveer a los expertos evaluadores todos ellos con grado de Doctorado y distinción de Investigadores Internacionales en los respectivos Consejos de Ciencia y Tecnología el homologo de CONACYT para los capítulos de America-Europa-Asia-Africa y Oceanía. La identificación de la autoría deberá aparecer únicamente en una primera página eliminable, con el objeto de asegurar que el proceso de Arbitraje sea anónimo y cubra las siguientes etapas: Identificación del Research Journal con su tasa de ocupamiento autoral - Identificación del Autores y Coautores- Detección de Plagio PLAGSCAN - Revisión de Formatos de Autorización y Originalidad-Asignación al Consejo Editorial- Asignación del par de Árbitros Expertos-Notificación de Dictamen-Declaratoria de Observaciones al Autor-Cotejo de Artículo Modificado para Edición-Publicación.

Instrucciones para Publicación Científica, Tecnológica y de Innovación

Área del Conocimiento

Los trabajos deberán ser inéditos y referirse a temas de Ciencias clínicas, Ciencias de la nutrición, Farmacología, Medicina interna, Medicina general, Medicina interna, Medicina preventiva y a otros temas vinculados a las Medicina y Ciencias de la Salud.

Presentación del Contenido

Como primer artículo presentamos, *Actividad antimicrobiana del veneno del pez escorpión (Scorpaena mystes) de Chamela, Jalisco, México*, por SOTO-DE LUNA, Itztlí Nefertari Ketzalli, GUTIÉRREZ-VILLEGAS, Cintia, LÓPEZ-CORTÉS, Georgina Ivette, GALVÁN-VILLA, Cristian Moisés, e ISLAS-RODRÍGUEZ, Alfonso Enrique, con adscripción en la Universidad De Guadalajara, como siguiente artículo presentamos, *Análisis de la citotoxicidad de la Annona muricata en células HeLa*, por SANCHEZ-RAMOS, Sanjuana, FLORES-VILLAVICENCIO, Lérica Liss, VILLAGOMEZ-CASTRO, Julio César y CARRILLO-LANDELL, Felipe Guadalupe, con adscripción en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato y la Universidad de Guanajuato, campus Guanajuato, como siguiente artículo presentamos, *Determinación de microcistinas LR y RR en agua del Lago de Chapala y su potencial efecto a la salud*, por PÉREZ-VÁZQUEZ, Miriam E., GARCÍA-VELASCO, Javier, OROZCO-MEDINA, Martha G. y CONTRERAS-RODRÍGUEZ, Sergio H., con adscripción en la Universidad de Guadalajara, como siguiente artículo presentamos, *Predicción de pacientes con diabetes a través de un modelo de aprendizaje supervisado de Minería de Datos*, por MEDINA-VELOZ, Gricelda, LUNA-ROSAS, Francisco Javier, TAVAREZ-AVENDAÑO, Juan Felipe y MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Del Rocío, con adscripción en la Universidad Tecnológica del Norte de Aguascalientes.

Contenido

Artículo	Página
Actividad antimicrobiana del veneno del pez escorpión (<i>Scorpaena mystes</i>) de Chamela, Jalisco, México SOTO-DE LUNA, Itztli Nefertari Ketzalli, GUTIÉRREZ-VILLEGAS, Cintia, LÓPEZ-CORTÉS, Georgina Ivette, GALVÁN-VILLA, Cristian Moisés, e ISLAS-RODRÍGUEZ, Alfonso Enrique <i>Universidad De Guadalajara</i>	1-6
Análisis de la citotoxicidad de la <i>Annona muricata</i> en células HeLa SANCHEZ-RAMOS, Sanjuana, FLORES-VILLAVICENCIO, Lérica Liss, VILLAGOMEZ-CASTRO, Julio César y CARRILLO-LANDELL, Felipe Guadalupe <i>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato</i> <i>Universidad de Guanajuato, campus Guanajuato</i>	7-11
Determinación de microcistinas LR y RR en agua del Lago de Chapala y su potencial efecto a la salud PÉREZ-VÁZQUEZ, Miriam E., GARCÍA-VELASCO, Javier, OROZCO-MEDINA, Martha G. y CONTRERAS-RODRÍGUEZ, Sergio H. <i>Universidad de Guadalajara</i>	12-20
Predicción de pacientes con diabetes a través de un modelo de aprendizaje supervisado de Minería de Datos MEDINA-VELOZ, Gricelda, LUNA-ROSAS, Francisco Javier, TAVAREZ-AVENDAÑO, Juan Felipe y MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Del Rocío <i>Universidad Tecnológica del Norte de Aguascalientes</i>	21-28

Actividad antimicrobiana del veneno del pez escorpión (*Scorpaena mystes*) de Chamela, Jalisco, México

Antimicrobial activity of the venom of the Scorpionfish (*Scorpaena mystes*) from Chamela, Jalisco, Mexico

SOTO-DE LUNA, Itztli Nefertari Ketzalli^{1†}, GUTIÉRREZ-VILLEGAS, Cintia^{1†}, LÓPEZ-CORTÉS, Georgina Ivette¹, GALVÁN-VILLA, Cristian Moisés², e ISLAS-RODRÍGUEZ, Alfonso Enrique^{1*}

¹Laboratorio de Péptidos Naturales. Departamento de Biología Celular y Molecular

²Laboratorio de Ecosistemas Marinos y Acuicultura. Departamento de Ecología, CUCBA. Universidad De Guadalajara. Km 15.5, carretera a Nogales, Las Agujas, Nextipac, C.P. 45110, Zapopan, Jalisco, México

ID 1^{er} Autor: Itztli Nefertari Ketzalli, Soto-De Luna

ID 1^{er} Coautor: Cintia, Gutiérrez-Villegas

ID 2^{do} Coautor: Georgina Ivette, López-Cortés

ID 3^{er} Coautor: Cristian Moisés, Galván-Villa

ID 4^o Coautor: Alfonso Enrique, Islas-Rodríguez / ORC ID: 0000-0003-4078-3209, Researcher ID Thomson: U-3577-2018, PubMed Autor ID: f7a8d50c938225f47ce59f4ba75a32dad608

Recibido Marzo 14, 2018; Aceptado Junio 04, 2018

Resumen

Este estudio se realizó del 21 de enero al 11 de junio del 2014. En ese período se capturó al pez escorpión (*Scorpaena mystes*), de la Bahía de Chamela Jalisco, México, y su posterior traslado al Laboratorio de Péptidos Naturales Antimicrobianos, en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA). El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad antimicrobiana y la composición cromatográfica del extracto de espinas del pez escorpión que contienen veneno, mediante bioensayos microbiológicos y geles de poli(acrilamida). Lo anterior para dar a conocer el potencial farmacéutico. Actualmente es una prioridad mundial encontrar nuevos medicamentos alternos a los convencionales, debido a la creciente resistencia observada de los microorganismos causantes de infecciones. Los resultados mostraron que el extracto de *S. mystes* inhibió a *Staphylococcus aureus* (G+), y a la levadura *Candida albicans*, no así a *Escherichia coli* (G-). Además, se observó mediante geles de poli(acrilamida), la presencia de bandas cromatográficas de bajo peso molecular lo cual puede deberse a moléculas de péptidos naturales antimicrobianos, que habrá que aislar y secuenciar.

Péptidos, Actividad antimicrobiana, *Scorpaena mystes*

Abstract

This study was realized from January 21th, to June 11th, 2014. In that term the scorpion fish (*Scorpaena mystes*) was captured, from the Chamela Bay, Jalisco, Mexico, and it was transferred to the Antimicrobial Natural Peptides Laboratory, in the University Center of Biological and Agricultural Sciences (CUCBA). The objective of this work was to study the antimicrobial activity and the chromatographic composition of the extract of scorpion fish spines containing the poison, by means of microbiological bioassays and polyacrylamide gels. The above mentioned is relevant to make known the pharmaceutical potential of this natural resources. Currently it is a global priority to find new alternative medicines to conventional ones, due to the increasing observed resistance of microorganisms that cause infections. The results showed that the extract of *S. mystes* inhibited *Staphylococcus aureus* (G +), and the yeast *Candida albicans*. In contrast *Escherichia coli* (G-) was not inhibited. In addition, the presence of low molecular weight chromatographic bands observed using polyacrylamide gels, may be due to molecules own to natural antimicrobial peptides, which must be probed, by isolation and sequencing.

Peptides, Antimicrobial activity, *Scorpaena mystes*

Citación: SOTO-DE LUNA, Itztli Nefertari Ketzalli, GUTIÉRREZ-VILLEGAS, Cintia, LÓPEZ-CORTÉS, Georgina Ivette, GALVÁN-VILLA, Cristian Moisés, e ISLAS-RODRÍGUEZ, Alfonso Enrique Actividad antimicrobiana del veneno del pez escorpión (*Scorpaena mystes*) de Chamela, Jalisco, México. Revista de Ciencias de la Salud. 2018. 5-15: 1-6.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: islas.alfonso@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer Autor

Introducción

Los organismos marinos y en particular los teleósteos, representan una importante fuente de nuevas sustancias de gran diversidad. Esta variedad de estructuras químicas puede ser utilizada como instrumento para la síntesis de nuevas moléculas con actividad farmacológica, (Pastrana, O. *et al.*, 2014). Particularmente los organismos venenosos han sido fuente de investigación con el propósito mencionado de encontrar productos farmacéuticos. Sin embargo, debido a las dificultades que se tienen para adquirir y almacenar extractos de los venenos de organismos marinos, específicamente los peces, continúa siendo un campo poco estudiado, (Jarrod, C. & Wayne, H., 2002).

El pez *Scorpaena mystes* pertenece al orden *Scorpaeniformes*; familia *Scorpaenidae*, es comúnmente conocido de acuerdo con la región en la que se encuentre, como pez escorpión, pez piedra, lapón, o diablo. Es una especie que habita en aguas poco profundas, comúnmente en arrecifes rocosos de mares templados, y en áreas arenosas abiertas. Es un depredador oportunista, permanece oculto en la superficie del arrecife en espera de presas potenciales. Es la especie más abundante de la familia *Scorpaenidae* a lo largo de la costa este de la península de Baja California, y su abundancia varía a partir del sur de Baja California hasta Chile. (Froese, R. *et al.*, 2018), (Jakes, U. *et al.*, 2017), (Scott, M., 1998).

Es una especie que presenta cuerpo robusto, ligeramente comprimido, llega a medir entre 28-45 cm de longitud; debajo del ojo presenta una marcada depresión, sus branquiespinas localizadas en los arcos branquiales, son cortas y gruesas; tienen entre 44-49 escamas en serie longitudinal, y abundantes prolongaciones membranosas a lo largo del cuerpo, las cuales le confieren su camuflaje. Los peces de la familia *Scorpaenidae* llegan a tener de 11 a 17 radios o espinas en la aleta dorsal, la cual se origina por delante ángulo posterior opercular; su aleta anal tiene 3 espinas, siendo la segunda más fuerte que la tercera; las pectorales están dispuestas en forma de abanico; las ventrales están insertadas por detrás de las pectorales, de gran tamaño y los radios inferiores están engrosados.

El sistema donde se produce el veneno de los *Scorpaenidae* se constituye por glándulas de veneno alargadas que se encuentran en los surcos anterolaterales de las espinas en la aleta dorsal, pélvica y anal. En el caso del pez león y el pez escorpión no presentan conducto excretor, mientras que el pez piedra tiene glándulas con un gran incremento en su tamaño emparejadas de manera longitudinal y tiene un conducto desarrollado, (Torres, R. 1991), (Amezcuca, F. 1996) (Khora, S. 2013).

Scorpaena mystes como todos los seres vivos tiene mecanismos de defensa inmune, en especial de inmunidad innata; fagocitosis, cascadas proteolíticas, y síntesis transiente de péptidos naturales antimicrobianos, que lo protegen de manera eficiente como su primera línea de defensa. El veneno es un elemento defensivo del pez y es expulsado por las espinas por presión mecánica. Contiene por lo menos uno de estos elementos mencionados de la inmunidad innata, que son los péptidos naturales antimicrobianos, (Hoffman *et al.*, 1999), (Loyo, Jesús. *et al.*, 2008). En nuestro laboratorio hemos desarrollado aplicaciones analíticas de extractos naturales. En este caso se realizó un extracto a partir de las espinas del pez escorpión para estudiar si este presentaba actividad antimicrobiana. Posteriormente se realizaron geles de poliacrilamida para estudiar su contenido de bandas protéicas y explorar si algunas de ellas, las de bajo peso molecular, corresponden a péptidos naturales antimicrobianos que son uno de los tres mecanismos de primera línea de la Respuesta Inmune innata de todos los seres vivos, que les permite sobrevivir darwinianamente en la adaptación y sobrevivencia de la "lucha por la vida" (Hoffman *et al.*, 1999).

El objetivo de este trabajo es, proponer una alternativa al uso de antibióticos convencionales que ahora se ha visto, han causado resistencia por parte de microorganismos patógenos. Por ejemplo, el cloranfenicol, que fue la primera opción contra la fiebre tifoidea, ya no es efectivo en muchas partes del mundo, *Mycobacterium tuberculosis* se ha hecho ampliamente resistente a los medicamentos, *Staphylococcus aureus* es resistente a la meticilina (SARM), *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son resistentes a múltiples medicamentos, constituyendo amenazas graves para la salud pública.

Plasmodium falciparum (el parásito que causa la forma más peligrosa de la malaria) está desarrollando resistencia a todas las clases conocidas de medicamentos antipalúdicos. En muchos sentidos, la resistencia a los antibióticos es similar al cambio climático, es decir es irreversible. Ambos son procesos que operan a escala global y de los cuales los humanos son en gran parte responsables. (Woolhouse, M. & Farrar, J., 2014)

Justificación

El veneno del pez escorpión presente en los extractos acuosos preparados en nuestro laboratorio ha sido reconocido como ictiotóxico, pero al mismo tiempo, como potencial agente farmacológico (Khora, 2013) y herramienta fisiológica. Este trabajo pretende demostrar que el veneno del pez piedra posee actividad antimicrobiana para aplicarlo como agente antimicrobiano.

Problema

Resolver la resistencia los antibióticos convencionales por medio de la aplicación de las moléculas presentes en el veneno del pez *Scorpaena mystes*.

Hipótesis

El veneno de *S. mystes* presente en los extractos acuosos preparados en nuestro laboratorio, contiene péptidos con actividad antimicrobiana.

Objetivo

1. Analizar el veneno de *Scorpaena mystes* presente en los extractos acuosos preparados en nuestro laboratorio para averiguar si tiene actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (Gram positivas), *Escherichia coli* (Gram negativas) y *Candida albicans* (Levadura) usando el bioensayo de Dalgaard & Peek.
2. Por medio de geles de acrilamida SDS-PAGE, conocer si el extracto del pez piedra contiene bandas de bajo peso molecular las cuales pueden ser péptidos antimicrobianos.

Marco Teórico

Los teleósteos son organismos marinos los cuales presentan una respuesta inmune con similitudes funcionales a la de los vertebrados superiores. Esta respuesta se verá afectada por diversos factores como situaciones adversas en el medio, o cambios en los factores abióticos, así como la edad del individuo entre otros (Olabuenaga, S. 2000).

El epitelio de los peces secreta un mucus el cual contiene péptidos antimicrobianos y carbohidratos con la función de protegerlo de parásitos, bacterias y hongos. Además de este sistema de defensa, otros peces, como es el caso de la mayoría de las especies pertenecientes a la familia *Scorpaenidae*, se distinguen por su gran capacidad toxicológica. Las toxinas que estos generan están compuestas de lípidos, aminas, quinonas, compuestos de amonio cuaternario, alcaloides, bases guanídnicas, fenoles, esteroides, mucopolisacáridos o compuestos halogenados. Las sustancias que generan la toxicidad continúan activas aún después de la muerte del pez, sin embargo, no presenta la misma intensidad.

El veneno que liberan ocasiona en el humano la degradación de proteínas y glicosaminoglicanos en la matriz extracelular del tejido conectivo, así como daños sistémicos de tipos cardiovasculares y neurológicos. Adicionalmente estas sustancias han reportado varias actividades biológicas y farmacológicas registradas para las moléculas aisladas de los venenos de las especies marinas que comprenden desde actividad antitumoral, antibacteriana, antifúngicas, antivirales, inmunosupresoras, insecticidas, propiedades neurotóxicas y citotóxicas. El tipo de organismos del que estos compuestos activos han sido aislados incluye invertebrados marinos, (Schillaci, D. *et al.*, 2010), (Chun, Li *et al.*, 2015) (Chun Li *et al.*, 2008), (Escobar, R. *et al.* 2015), (Loyo, J. *et al.* 2008), (Olabuenaga, S. 2000). Se han realizado investigaciones referentes a las propiedades farmacológicas que tienen otros peces venenosos como el Pez león (*Pterois volitans*) perteneciente a la misma familia que *S. mystes* (*Scorpaenidae*) en estos estudios se plantea que el veneno de estas especies podría proporcionar un medicamento alternativo para controlar la resistencia generada por *Staphylococcus aureus* a la metilina (MRSA), (Escobar, R. *et al.* 2015).

En este trabajo se plantea que el pez escorpión, *Scorpaena mystes*, basa su inmunidad innata en parte gracias a que posee actividad antimicrobiana, debida a los péptidos naturales antimicrobianos (PNA).

Material y métodos

Cepas microbianas

Las cepas utilizadas fueron, *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538™) (G+), *Escherichia coli* (ATCC® 9637™) (G-) y *Candida albicans* (levadura) obtenida del Instituto Dermatológico de Jalisco.

Pez y extracción del veneno

El pez se capturó en la bahía de Chamela, Jalisco. Se sacrificó y mantuvo en congelación hasta llegar al laboratorio, en donde se cortaron las espinas con material de disección, y posteriormente se preparó el extracto acuoso a partir de un macerando de las espinas en un mortero de 10 cm de diámetro, con solución salina, PBS (buffer de fosfato salino pH 7.2), hasta obtener una suspensión, la cual se vertió en tubos eppendorf para centrifugar a 5,000 rpm con una temperatura de 25°C durante 25 min para obtener el sobrenadante, el cual se esterilizó por filtración (0.22 micras) y se guardó a 4°C.

Bioensayo microbiológico

Se realizaron bioensayos en Agar Soja Tryptica (BD), y medio Saboraud (DIBICO), poniendo en contacto al extracto concentrado y sus diluciones seriadas contra cada una de las cepas mencionadas arriba usando el método de microdilución convencional, (Dalgaard *et.al.*, 1994), seguido por la determinación de la concentración mínima inhibitoria usando el ensayo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), (Ong *et.al.*, 1994). Finalmente, con los datos obtenidos se creó una gráfica en Microsoft Excel.

Perfil Electroforético en SDS-PAGE

Las muestras para el corrimiento electroforético se prepararon a partir de una dilución 1:1 del extracto/buffer -Laemmli 2X (BioRad) con 5% de 2 mercaptoethanol (Sigma).

Antes de cargar en el gel, las muestras se sometieron a choque térmico, en baño maría a 100°C durante 2-10 min, posteriormente se desactivó la solución proteica colocándola 1 segundo en el congelador, por último, se agregaron 10 µl de la muestra en cada pozo del gel al 18%, (SDS-PAGE). El corrimiento se llevó a cabo en buffer de corrimiento 1X Tris/Glicina SDS

Buffer® (BioRad) pH 8.3 a 130 V por 113 min. La tinción se llevó a cabo usando una solución con 1 g de azul de Coomassie R-250, 450 mL de metanol, 450 mL de agua desionizada y 100 mL de ácido acético glacial, se agregaron 20 mL para cada gel y se tiñó 24 horas, después para desteñir y realizar su observación y documentación se colocó el gel en solución al 10% de metanol, 10% ácido acético glacial y 80% de agua desionizada (Bollag y Edelstein, 1991).

Resultados y Discusión

Actividad Antimicrobiana del veneno de *Scorpaena mystes*

Los resultados observados en los bioensayos muestran que el veneno de *S. mystes* inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538™) (G+). Se observó una inhibición típica dosis-respuesta, (Figura 1).

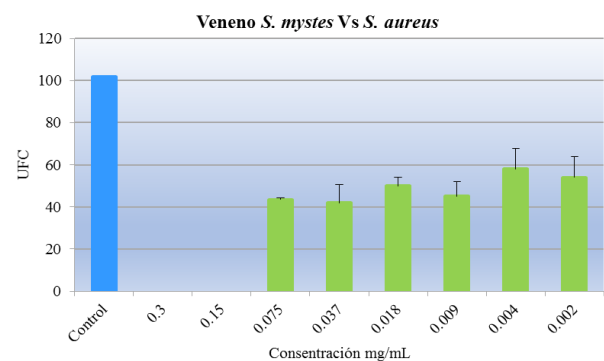


Figura 1 Resultados del bioensayo realizado con veneno de pez piedra Vs *S. aureus*

En contraste, el veneno de *S. mystes* no presentó actividad antimicrobiana dosis-respuesta contra *Escherichia coli* (ATCC® 9637™) (G-), no obstante, todas las concentraciones del veneno causaron menor crecimiento en comparación al control (Figura 2).

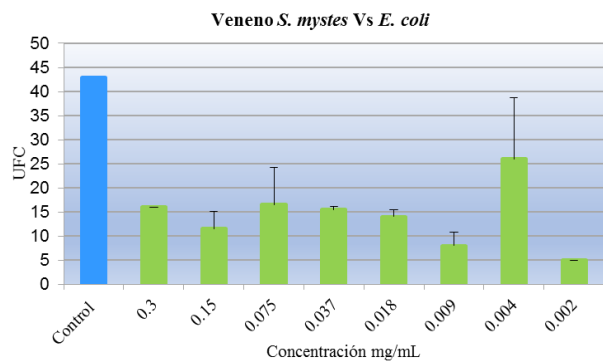


Figura 2 Resultados del bioensayo realizado con veneno de pez piedra Vs *E. coli*.

Candida albicans (levadura) presentó también una inhibición típica dosis-respuesta hasta la tercera concentración, en el resto de las diluciones el número de UFC fue casi uniforme, (Figura 3).

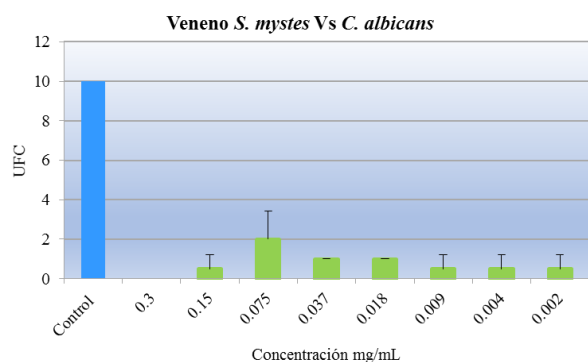


Figura 3 Resultados del bioensayo realizado con veneno de pez piedra Vs *C. albicans*

Perfil Electroforético en SDS-PAGE 4-18%

En la figura 4 se puede observar el corrimiento electroforético por carril en el gel al 18% de acrilamida. En el primer carril se colocaron los marcadores moleculares, en los siguientes tres carriles se agregaron 15 µl del de espinas del pez escorpión que contiene el veneno, en el 4, 5 y 6 se pusieron 10 µl y en los últimos tres se colocaron 5 µl. En todas las muestras a probar se observaron bandas de alto peso molecular que pueden corresponder a diferentes formas de colágena. Pero de manera muy clara se observó una banda de bajo peso de aproximadamente 10 Kda, y otras menos claras cercanas a 15 Kda.

Los resultados anteriores de la electroforesis en geles de poliacrilamida sugieren que la banda de 10 Kda y las de 15 Kda podrían corresponder a péptidos antimicrobianos, lo cual se debe confirmar secuenciando esas bandas (Figura 4).

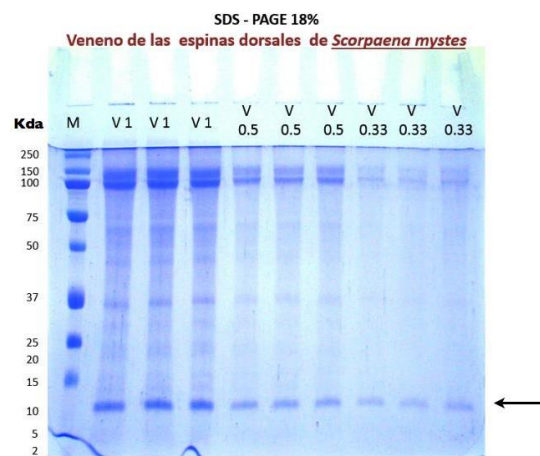


Figura 4 Corrimiento electroforético realizado en gel de poliacrilamida con diferentes concentraciones de veneno

Se puede decir que el veneno del pez escorpión tiene moléculas de bajo peso molecular -péptidos antimicrobianos, que inhiben eficientemente a *S. aureus* y a *C. albicans*, no así a *E. coli*. Lo anterior puede deberse a que el pez escorpión ha desarrollado estas moléculas por selección darwiniana de acuerdo a su medio ambiente.

Por último será necesario aislar las bandas de 10 Kda, y las otras menos claras cercanas a 15 Kda, para repetir los bioensayos, para después en caso positivo de reproducibilidad de los mismos, secuenciar esas bandas.

Conclusión

1. El veneno de *S. mystes* muestra actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *C. albicans*, no así para *E. coli*.
2. Las bandas de bajo peso molecular pueden indicar la presencia de péptidos naturales antimicrobianos presentes en el veneno.

Referencias

Amezcu, F. (1996). Diagnóstico, aspectos biológicos y pesqueros de las especies. En Peces demersales de la plataforma continental del Pacífico central de México (182). México: ICMYL, UNAM, CONABIO. (Clypeasteroidea: Mellitidae) y *Diadema antillarum* (Diadematoidea: Diadematoidea) del Caribe Colombiano. Revista de Biología Tropical. Volumen 63 (Suppl. 2): 329-337.

Bollag, D and Edelstein, S (1991). Protein Methods (Second Ed.); Wiley Liss.

- Dalgaard, P., Ross, T., Kamperman, L., Neumeyer, K., & McMeekin, T. A. (1994). Estimation of bacterial growth rates from turbidimetric and viable count data. *International journal of food microbiology*, 23(3-4), 391-404.
- Escobar Román, Raylen, Leiva Acebey, Leonardo, & Sorí León, Yanicel. (2015). Pez león (*Pterois volitans*) y su impacto en la salud humana. *Gaceta Médica Espirituana*, 17(1), 82-92.
- Froese, R. and D. Pauly. Editors. 2018. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, versión (02/2018).
- Hoffmann, J. A., Kafatos, F. C., Jr, C. A. J., & Ezekowitz, R. A. B. (1999). Phylogenetic Perspectives in Innate Immunity, 284(May), 1313–1318.
- Jakes, C., Ulianov, T., Valdez, A. & López, F. (2017). Length-weight relationship and relative condition factor of the Stone Scorpionfish *Scorpaena mystes* in the central area of the Gulf of California, Mexico. *Hidrobiológica*, 27(1), 127-129.
- Jarrold, C. & Wayne, H. (2002). The pharmacological activity of fish venoms. *Toxicon*. Vol.40 (N.º 8). Pp: 1083-1093.
- Khora, S. S. (2013). Pharmacological Potentials of Scorpaenidae Fish Venom, 5(3), 77–86.
- Li C, Haug T, Styrvold OB, Jørgensen TØ, Stensvåg K. (2008). Strongylocins, novel antimicrobial peptides from the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Developmental & Comparative Immunology*, 32 (12), 1430-1440.
- Li, C., Haug, T., & Stensvåg, K. (2015). Antimicrobial peptides in echinoderm host defense. *Developmental & Comparative Immunology*, 49, 190-197.
- Loyo, Jesús, Lugo, Lusneida, Cazorla, Dalmiro, Acosta, María Eugenia, Envenenamiento por pez escorpión (*Scorpaena plumieri*) en una comunidad pesquera y turística de la península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela: aspectos clínicos, epidemiológicos y tratamiento. *Investigación Clínica*, 2008, 49.
- Olabuenaga, Susana E. (2000). Fish immune system. *Gayana (Concepción)*, 64(2), 205-215.
- Ong, P. Y., Ohtake, T., Brandt, C., Strickland, I., Boguniewicz, M., Ganz, T., & Leung, D. Y. (2002). Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *New England Journal of Medicine*, 347(15), 1151-1160.
- Pastrana, O. et al. (2014). Actividad antibacteriana y antifúngica de la estrella de mar *Oreaster reticulatus* (Valvatida: Oreasteridae) y de los erizos de mar *Mellita quinquesperforata* Torres, R. (1991). Segunda parte. En *Los peces de México* (166). México, Distrito Federal: AGT
- Schillaci, D., Arizza, V., Parrinello, N., Stefano, V. Di, Fanara, S., Muccilli, V., & Cunsolo, V. (2010). Antimicrobial and antistaphylococcal biofilm activity from the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 17–24. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04394.x>
- Scott W. Michael. (1998). Reef Fishes. Estados Unidos de América: T.F.H
- Woolhouse, M. & Farrar, J. (2014). Policy: An intergovernmental panel on antimicrobial resistance. *Nature* 509, 555–557.

Análisis de la citotoxicidad de la *Annona muricata* en células HeLa

Analysis of the cytotoxicity of *Annona muricata* in HeLa cells

SANCHEZ-RAMOS, Sanjuana*†, FLORES-VILLAVICENCIO, Lérica Liss, VILLAGOMEZ-CASTRO, Julio César y CARRILLO-LANDELL, Felipe Guadalupe

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato - Silao km 12.5 Colonia El Copal. Departamento de Biología, DCNE Universidad de Guanajuato, campus Guanajuato, Noria Alta s/n, Col. Noria Alta, Guanajuato, Gto.

ID 1^{er} Autor: *Sanjuana, Sanchez-Ramos* / ORC ID: 0000-0001-6835-0494, CVU CONACYT ID: 953345

ID 1^{er} Coautor: *Lérica Liss, Flores-Villavicencio* / ORC ID: 0000-0002-3834-1631, Researcher ID Thomson: T-5379-2018, CVU CONACYT ID: 16587

ID 2^{do} Coautor: *Julio César, Villagomez-Castro* / ORC ID: 0000-0001-6349-6005, CVU CONACYT ID: 38686

ID 3^{er} Coautor: *Felipe Guadalupe, Carrillo-Landell* / ORC ID: 0000-0002-2826-4759, CVU CONACYT ID: 38309

Recibido Marzo 15, 2018; Aceptado Junio 04, 2018

Resumen

El guanábano (*Annona muricata* L.) es una planta frutícola de la familia Anonáceas. Se ha reportado la presencia de acetogeninas citotóxicas. La investigación tiene gran relevancia debido a sus actividades biológicas. El presente trabajo analiza el efecto del extracto acuoso y etanólico de *A. muricata* en células HeLa (CCL-2, adenocarcinoma cervicouterino humano). Materiales: marcador de proteínas (BIOLINE), cámara AxioCamERc5 (ZEISS) y microscopio (LABOMED). Metodología: Se molió con mortero hojas de Nayarit México. Se obtuvo extracto acuoso de 10 g con 50 ml de agua destilada hirviendo. El extracto etanólico empleó 10 g de material molido, se hizo una extracción con 50 ml de etanol al 95%, se filtró y se realizó una evaporación hasta tener 25 ml. Se cultivó a las células en medio DMEM con SFB10% a 37°C en incubadora de CO₂ HealForce al 5%. La actividad metabólica mitocondrial se determinó por ensayo XTT, la biomasa por método de cristal violeta y el patrón de proteínas totales por SDS-PAGE al 10%. Los resultados muestran que ambos extractos tienen efecto sobre las células cancerígenas HeLa, ya que el análisis morfológico por tinción con azul de metileno indica alteraciones. No hay degradación de proteínas totales. En conclusión se observa que las hojas de *A. muricata* sí causan daño en la estructura de las células y un efecto significativo sobre la actividad metabólica celular dependiendo de la concentración.

Citotoxicidad, Cáncer, HeLa

Abstract

The guanabano (*Annona muricata* L.) is a fruit plant of the family Anonáceas [1]. The presence of cytotoxic acetogenins has been reported. The present work analyzes the effect of the aqueous and ethanolic extract of *A. muricata* on HeLa cells (CCL-2, human cervical adenocarcinoma). Materials: protein marker (BIOLINE), camera AxioCamERc5 (ZEISS) and microscope (LABOMED). Method: Nayarit México was ground with mortar. A 10 g aqueous extract was obtained with 50 ml of boiling distilled water. The ethanolic extract used 10 g of ground material, an extraction was made with 50 ml of 95% ethanol, filtered and evaporated to 25 ml. Cells were cultured in DMEM medium with SFB10% at 37 ° C in a 5% CO₂ HealForce incubator. Mitochondrial metabolic activity was determined by XTT assay, biomass by crystal method violet and total protein pattern by 10% SDS-PAGE. The results show that both extracts have effect on the HeLa cancer cells, since the morphological analysis by staining with methylene blue indicates alterations. There is no degradation of total proteins. In conclusion, it is observed that *A. muricata* leaves do cause damage to the cell structure and a significant effect on the cellular metabolic activity depending on the concentration.

Cytotoxicity, Cancer, HeLa

Citación: SANCHEZ-RAMOS, Sanjuana, FLORES-VILLAVICENCIO, Lérica Liss, VILLAGOMEZ-CASTRO, Julio César y CARRILLO-LANDELL, Felipe Guadalupe. Análisis de la citotoxicidad de la *Annona muricata* en células HeLa. Revista de Ciencias de la Salud. 2018. 5-15: 7-11.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: sansanchez@itesi.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer Autor

Introducción

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. En 2012 se registraron alrededor de 14 millones de nuevos casos. El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo; en 2015, ocasionó 8,8 millones de defunciones. Casi una de cada seis defunciones en el mundo se debe a esta enfermedad. El impacto económico del cáncer es sustancial y va en aumento. Según las estimaciones, el costo total atribuible a la enfermedad en 2010 ascendió a US\$ 1,16 billones. La *Annona muricata*, también conocida como guanábana es un pequeño árbol perteneciente a la familia *Annonaceae*, género *Annona*. Es un árbol frutal con una larga historia de uso tradicional. *Annona muricata* también es conocida como graviola guanábana, es una planta perenne que es principalmente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo.

Tiene una amplia gama de aplicaciones medicinales en comunidades indígenas de África y América del sur. Los frutos de *A. muricata* se utilizan para preparar jarabes, caramelos, bebidas, helados y batidos. Por otra parte, existen numerosas investigaciones que han probado que tiene una actividad anti cáncer, anticonvulsivo, antiartrítico, antiparasitario, antipalúdico, hepatoprotector, antidiabético, hipotensor, analgésico y antiinflamatorio.

Dichas propiedades se deben a la presencia de acetogeninas principalmente en las hojas de *Annona muricata*. Las acetogeninas de anonáceas, son sustancias cerosas que resultan de la combinación de ácidos grasos de cadena larga (C33 o C34), con una unidad de 2-ptopanol en el carbono 2 para formar una lactina. Los mecanismos de la actividad biológica es mediante la inhibición del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. La actividad inhibitoria de las ACG sobre la proliferación celular de las líneas cancerosas es heterogénea, y esto no es sorprendente si se considera que cada línea proviene de eventos de carcinogénesis específicos, por lo que diversos genes se expresan y/o suprimen, aún en las líneas que provienen de un mismo órgano. Así, otros factores además de las ACG deben estar involucrados.

Para evitar la muerte, las células expuestas a las ACG pudieran activar mecanismos para superar aunque sea de manera transitoria, la reducción energética y la producción de especies reactivas de oxígeno, productos de la inhibición del complejo I mitocondrial. Entre estos mecanismos se encuentran el incremento de la glicólisis anaerobia, la expresión de factores antiapoptóticos y una respuesta antioxidante con las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Se ha descrito que las ACG inducen la muerte celular programada, con el incremento de las proteínas proapoptóticas Bad y Bax y de inhibidores de la progresión del ciclo celular, aunque aún no está claro su mecanismo de activación, es posible que sea mediante la vía mitocondrial con la pérdida del potencial de membrana. Las posibilidades del uso terapéutico de *A. muricata* representa un área potencial en el tratamiento de enfermedades infecciosas y neurodegenerativas.

Materiales y Métodos

Extracto acuoso (Método infusión)

Pesar 20 gramos de hojas de *A. muricata*. Colocar en un vaso de precipitado 100 ml de agua destilada y se calienta en plancha de calentamiento. Una vez que el agua haya hervido verter las hojas y dejar unos segundos, tapar y retirar de la fuente de calor. Enfriar, filtrar y envasar en un frasco ámbar.

Extracto etanólico

Secar al aire y posteriormente en horno a 45 °C y se molieron y tamizaron hasta obtener un polvo fino. Pesar 20 g del material molido y se realiza una extracción con 100 mL de etanol al 95 % caliente, se deja enfriar para posteriormente realizar una filtración en frío y una evaporación hasta tener un volumen de 50mL. Se afora el extracto obtenido a 100 ml con agua destilada obteniendo un extracto etanólico concentrado.

Cultivo celular

Para este estudio se utilizó un cultivo de células HeLa ATCC No. CCL-2 (Células de adenocarcinoma cervicouterino humano), las cuales fueron cultivadas en medio DMEM con SFB 10% bajo las condiciones de 5% de CO₂ a 37°C.

Ensayo de citotoxicidad

La citotoxicidad celular se evaluó con dos técnicas diferentes, con Ensayo de actividad metabólica XTT y determinación de Biomasa. Ensayo de actividad metabólica XTT. La actividad metabólica se determinó cuantificando la capacidad de las células para reducir la sal de tetrazolio XTT amarilla (2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil) -2-h-tetrazolio-5-carboxanilida) a formazan, por enzimas deshidrogenasas (mitocondrias) en células metabólicamente activas.

Después de la incubación, las células se lavaron dos veces con PBS precalentado (37°C). Posteriormente, se determinó la absorción del colorante de formazan a una longitud de onda de 490 nm en un espectrofotómetro de placa de microtitulación (Epoch Biotek). Para llevar a cabo dicho ensayo se utilizó con una placa de 96 pozos con células HeLa expuestas a partir de 100µl de extracto etanólico y acuoso respectivamente por dilución seriada a las cuales se les aplicó el ensayo con XTT.

Determinación de Biomasa

Para la determinación de Biomasa se lavó cada pocito con PBS. Se fijaron las muestras con metanol al 99% por 15 minutos a temperatura ambiente. La fijación es esencialmente un método para la preservación de la morfología y composición química de la celular.

Después se lavó el metanol con PBS. Se adicionó cristal violeta al 0.001% por 5 minutos, el cristal violeta tiende a fijarse en los núcleos celulares, de manera que puede establecerse la relación directa entre el número de células viables y la cantidad de cristal violeta fijado.

Se agregó ácido acético al 33% por 10 minutos. La determinación se basa en la formación de NADH medido por el aumento de la absorción de luz (490 nm). Debido al equilibrio de la reacción indicadora precedente, la cantidad de NAD formado no es linealmente (directamente) proporcional a la concentración de ácido acético. Por último se recuperó el sobrenadante y se realizó una absorbancia a 570 nm.

Análisis estructural

Con la finalidad de analizar la estructura celular se empleó la microscopía de campo claro. Las células se fijaron con 0.05% Glutaraldehído+4%p-formaldehído en PBS. Se añadió azul de metileno durante 5 minutos. Estas fueron lavadas con PBS nuevamente. Se montó la preparación y las muestras se Observaron en un campo claro, las imágenes fueron adquiridas con una cámara Axiocam ICc1 de la marca Carl Zeiss acoplada al microscopio de Leica DMSL.

Determinación de proteínas totales

Después de la exposición de las muestras, se obtuvo un homogenado total de las células y se realizó la separación de las proteínas en geles de poliacrilamida al 10% en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE), usando la técnica descrita por Laemmli (1970). Finalizada la corrida, el gel fue teñido con Azul de Coomassie para la visualización de las proteínas, la adquisición de la imagen se realizó en un equipo ChemiDoc MP System-BIORAD utilizando el software Image Lab™ software (BIORAD).

Resultados y Discusión

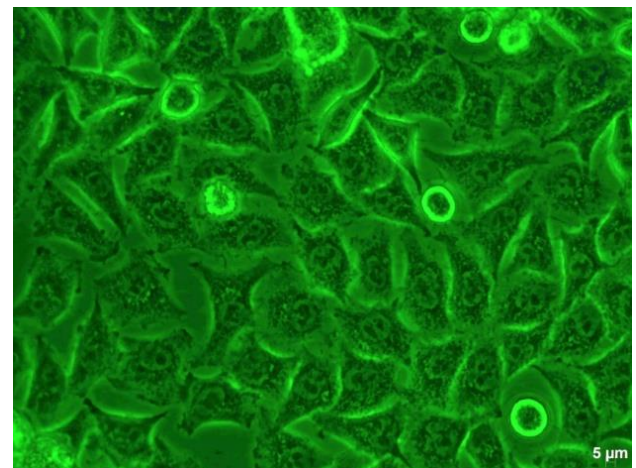
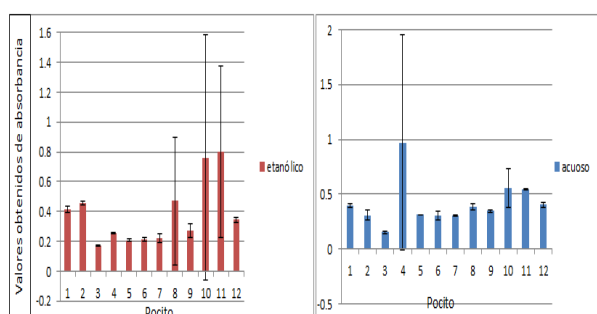
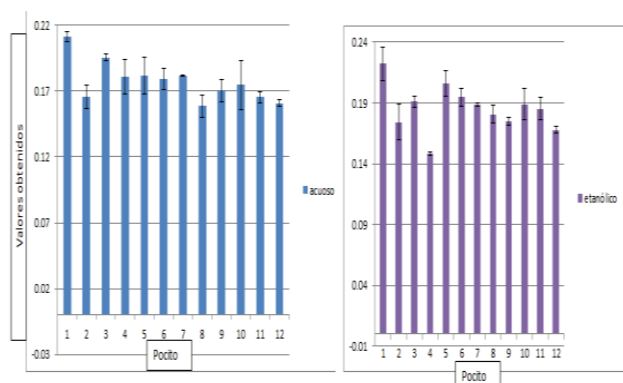


Figura 1 Células HeLa (CCL-2, adenocarcinoma cervicouterino humano), cultivadas en medio DMEM con SFB 10% 37°C y 5% de CO₂

Aplicando el análisis estadístico es posible observar que la viabilidad celular determinada en la Gráfica 1 con el ensayo XTT se ve mermada por la presencia de los extractos a comparación con el control.

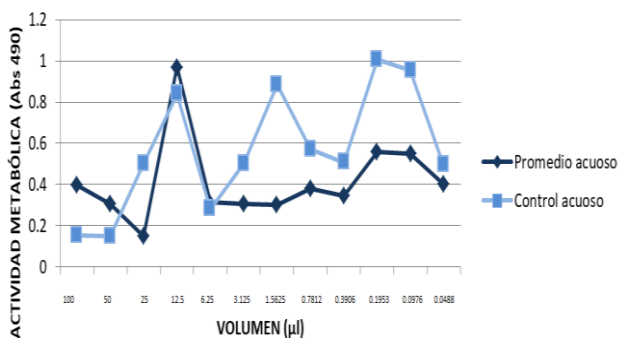


Gráfica 1 Ensayo XTT de 24 horas

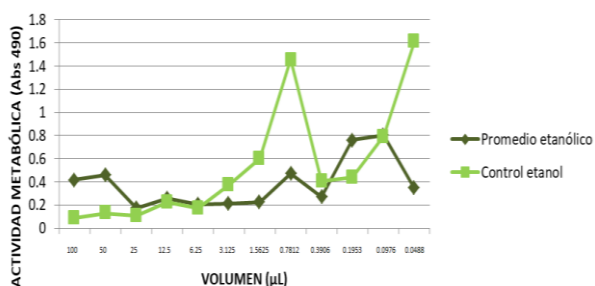


Gráfica 2 Biomasa de 24 horas

Como se puede observar en la Gráfica 2 con la Determinación de Biomasa, es posible determinar la cantidad de células que había en cada pocito, efectivamente, hubo cierta pérdida de células pero la biomasa nos indica que había cierto número específico de células al finalizar el experimento.



Gráfica 3 Efecto del extracto acuoso vs control acuoso



Gráfica 4 Efecto del extracto etanólico vs control acuoso.

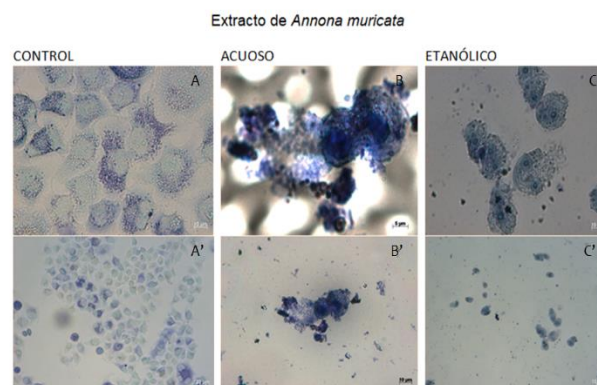


Figura 2 El análisis morfológico (Fig. A) que es el control, comparada con la (Fig. B) y (Fig. C) indica alteraciones en las células HeLa por efecto de los extractos de *A. muricata*.

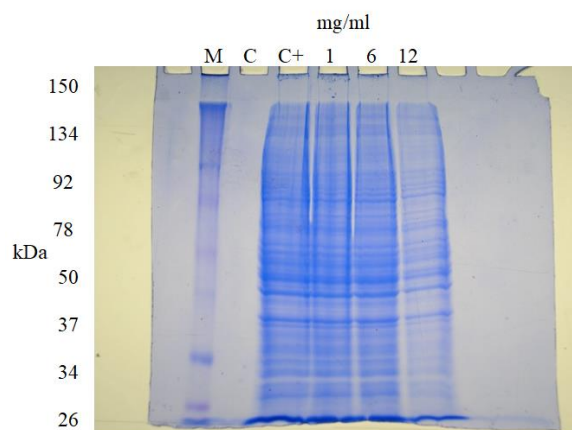


Figura 3 Perfil total de proteínas a partir de células HeLa expuestas a diferentes concentraciones de los extractos (etanólico y acuoso) de *Annona muricata* muestra que no hay degradación de las proteínas totales

Conclusiones

En conclusión se observa que los extractos acuoso y etanólico procedentes de las hojas de *Annona muricata* si causan daño en la estructura de la células sin embargo va a depender de la concentración, y teniendo un efecto significativo sobre la actividad metabólica celular.

Agradecimientos

El desarrollo del presente trabajo fue posible gracias al Laboratorio de Biología Celular de la Universidad de Guanajuato, apoyado por la Dra. Lérica Liss Flores Villavicencio, Dr. Julio César Villagómez Castro y al Dr. Felipe Guadalupe Carrillo Landell.

Referencias

- Angel Quispe, D. Z. (2007). Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanabana) en cultivo de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. *CIMEL*, Vol. 12 N° 1 19-22 http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v12_n1/pdf/a05v12n1.pdf.
- ATCC. (2016). ATCC. Recuperado el 03 de 09 de 2017, de HeLa (ATCC® CCL-2™): Recuperado de <https://www.atcc.org/products/all/CCL-2.aspx>
- García, M. (2009). *Mecanismos celulares moleculares de la patología vascular de la dirofilariosis cardiopulmonar. El papel de las filarias y de los endosimbiontes del género Wolbachia*. Salamanca España: Ediciones Universidad de Salamanca. 108-110
- Kim G, Z. L. (1998). Muricoreacin and murihexocin C, mono-tetrahydrofuran acetogenins, from the leaves of *Annona muricata*. *Phytochemistry*, 49(2):565-71.
- Lock O, R. R. (2003). Química y Farmacología de *Annona muricata* Linn. . *Revista de Química*, 8(2):23-8.
- M. Yamarte, M. M. (2006). Características crecimiento de las ramas del guanábano (*Annona muricata* L.) bajo las condiciones de un bosque muy seco tropical. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.23 n.1 http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182006000100001.
- R-BIOPHARM, B. M. (- de - de 2013). *Ácido Acético*. Recuperado el 03 de 09 de 2017, de Enzymatic BioAnalysis/Food Analysis : http://www.r-biopharm.com/wp-content/uploads/4065/Roche_Inserto-SP_Acetico_2013-10.pdf
- Salud, O. M. (febrero de 2017). *Organización mundial de la salud*. Recuperado el 23 de 07 de 2017, de Cáncer, datos y cifras: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
- SCHLIE-GUZMÁN, G.-E. L.-C. (2009). Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. *BLACPMA ISSN 0717 7917*, 8 (4), 245 - 257.
- Soheil Zorofchian Moghadamtousi, Mehran Fadaeinasab, Sonia Nikzad, Gokula Moha (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7): 15625–15658. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4519917/>
- Tomasi, V. H. (25 de 11 de 2008). *Fijación de Muestras Biológicas*. Recuperado el 03 de 09 de 2017, de Fijación: <http://educacionhistotecnologiafijacion.blogspot.mx/>
- Tormo J, G. C. (1999). Kinetic Characterization of Mitochondrial Complex I Inhibitors Using Annonaceous Acetogenins . *Arch Biochem Biophys*, 369 (1):119-26.

Determinación de microcistinas LR y RR en agua del Lago de Chapala y su potencial efecto a la salud

Determination of microcystins LR and RR in the water of Lake Chapala and its potential health effect

PÉREZ-VÁZQUEZ, Miriam E.†, GARCÍA-VELASCO, Javier*, OROZCO-MEDINA, Martha G. y CONTRERAS-RODRÍGUEZ, Sergio H.

Universidad de Guadalajara, Av. Juárez 976 col. Centro CP. 44100

ID 1^{er} Autor: *Miriam E., Pérez-Vázquez* / ORC ID: 0000-0003-0814-0158, Researcher ID Thomson: T-4597-2018, arXiv Author ID: MiriamPerez, CVU CONACYT ID: 948971

ID 1^{er} Coautor: *Javier, García-Velasco* / ORC ID: 0000-0003-3042-7841, Researcher ID Thomson: T-4575-2018, CVU CONACYT ID: 252703

ID 2^{do} Coautor: *Martha G., Orozco-Medina* / ORC ID: 0000-0002-2619-3408, Researcher ID Thomson: T-4562-2018, arXiv Author ID: morozco, CVU CONACYT ID: 25755

ID 3^{er} Coautor: *Sergio H., Contreras-Rodríguez* / ORC ID: 0000-0002-8905-2725, Researcher ID Thomson: T-4562-2018, arXiv Author ID: SERCONTRER

Recibido Marzo 15, 2018; Aceptado Junio 24, 2018

Resumen

Las microcistinas (MCs) son hepatotoxinas producidas por cianobacterias, capaces de causar daños a la salud a corto y largo plazo, se consideran como un importante contaminante del agua superando en importancia a los metales pesados y plaguicidas. La OMS sugiere un límite provisional de 1.0 µg/L y declara que los pacientes con diálisis renal son un grupo especialmente vulnerable. Es así que, se realizó la determinación de MCs en agua del Lago de Chapala, (en la zona de Agua Caliente, Poncitlán, Jal. México). Mediante SPE y UPLC-MS/MS se registran concentraciones entre 0.60 y 0.013 µg/L de MC-LR y MC-RR; y dada la capacidad genotóxica, mutagénica y teratogénica de la toxina, tales niveles pueden influir sobre la salud de las personas expuestas por el uso recreacional y consumo de animales y cultivos contaminados. Se destaca así la primera propuesta metodológica de estandarización para las MCs y en su caso se sugiere incluir en las actualizaciones de las Normas Oficiales Mexicanas.

Microcistinas, Riesgo, Salud.

Abstract

Microcystins (MCs) are hepatotoxins produced by certain types of cyanobacteria, capable of causing short and long-term damage to the health, they are considered as an important water pollutant overtaking heavy metals and pesticides in importance. A provisional limit concentration of 1.0 µg/L is suggested by World Health Organization (WHO), and renal-dialysis patients are declared as a vulnerable group. Therefore, MC determination of water samples of Lake Chapala was carried out (Agua Caliente, Poncitlán, Jalisco, México). MC-LR and MC-RR concentrations between 0.60 and 0.013 µg/L were obtained by SPE and UPLC-MS/MS methods. The recreational use of the lake and the consumption of animals and food crops contaminated by the water could affect the health of exposed people due to the genotoxic, mutagenic and teratogenic potential of MC. The first methodological proposal for MC standardization is highlight, and is suggested to be included in the updates of the Official Mexican Standards (NOM).

Microcystins, Risk, Health

Citación: PÉREZ-VÁZQUEZ, Miriam E., GARCÍA-VELASCO, Javier, OROZCO-MEDINA, Martha G. y CONTRERAS-RODRÍGUEZ, Sergio H. Determinación de microcistinas LR y RR en agua del Lago de Chapala y su potencial efecto a la salud. Revista de Ciencias de la Salud. 2018. 5-15: 12-20.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: garciavelasco@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer Autor

Introducción

A finales del siglo XX, los procesos de eutrofización de las aguas y los crecimientos masivos de cianobacterias en el fitoplancton comenzaron a ser muy estudiados, sin embargo, las investigaciones sobre identificación y cuantificación de las toxinas producidas por las cianobacterias son posteriores, por lo que sólo recientemente se ha reconocido a estos organismos como un problema de salud pública (Cirés y Quesada, 2011).

Las cianotoxinas son consideradas como los compuestos más tóxicos y preocupantes en las masas de agua, tanto por su elevada distribución como por su alta toxicidad (Pérez, et al., 2008), capaces de provocar intoxicaciones masivas en las poblaciones humanas y animales con resultados incluso fatales, tal como ocurrió en la ciudad de Caruaru, Brasil en 1996, donde algunos autores aseguran que ocurrió la intoxicación más grave reportada con 131 intoxicaciones y 52 muertes (Jochimsen, et al., 1998; Pouria, et al., 1998; Carmichael, 2001; Azevedo, et al., 2002).

Una de las cianotoxinas que ha captado el interés de muchos investigadores por su abundancia, resistencia y toxicidad son las MCs (figura 1), clasificadas como hepatotoxinas de bajo peso molecular, producidas fundamentalmente por los géneros de cianobacterias: *Microcystis sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Anabaena sp.*, *Oscillatoria sp.* y *Nodularia sp.* (Martínez, 2006; Ardanaz, 2010 y Ruiz, et al., 2010).

Sus células diana son fundamentalmente los hepatocitos y macrófagos, provocando el colapso de la organización tisular, necrosis y hemorragia intra-hepática.

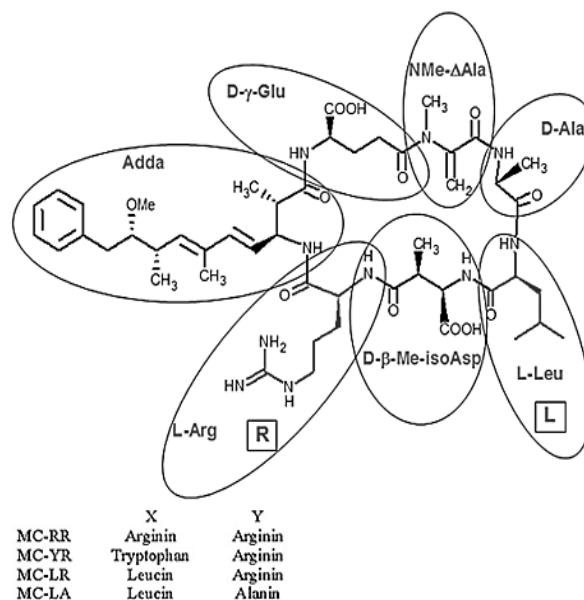


Figura 1 Estructura cíclica de las MCs formada por siete aminoácidos: *D*-alanina, *D*-eritro-β-Metil-Aspártico, 3-amino-9-metoxi-2, 6, 8-trimetil-10-fenildeca-4, 6-ácido dienóico, *D*-glutámico, *N*-metildehidro-Alanina, con la fórmula química de “Cyclo (-*D*-Ala-*L*-*X*-*D*-eritro-β-Me-Asp-*L*-*Y*-ADDA-*D*-Glu-Mdha)”.

Fuente: Recuperada y modificada de De Luca, et al., (2010)

Además, son potentes inhibidoras de la fosfatasa proteica tipo 1 y 2A (PP1 y PP2A) tanto de animales como de plantas superiores; provocando que su ingesta en altas concentraciones ocasione la muerte y/o efectos acumulativos crónicos, como la inducción a la formación de tumores hepáticos (Almanza, et al., 2016).

Algunos de los efectos agudos que se pueden presentar tras una única exposición a elevadas concentraciones de MCs son: irritación de la piel, ojos, oídos y boca, que suele involucrar descamación, erupciones y aparición de ampollas. En caso de que ocurriera una ingesta accidental, algunos de los síntomas más comunes incluyen: daño en el hígado (heptoenteritis con hepatomegalia, dolor abdominal y elevación de enzimas hepáticas séricas como γ-glutamilttransferasa), daño renal (acompañado de pérdida de electrolitos, glucosa, cetonas y sangre en la orina), afecciones en el tracto digestivo (gastroenteritis aguda, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarreas), en el tracto respiratorio (dolor de garganta, tos seca y neumonía atípica) y otras afecciones como episodios alérgicos, síntomas de asma, fiebre, cefaleas, fatiga y mareos (Chorus y Bartram, 1999; Falconer, 1999, Carmichael, 2001 y Moreno, 2002).

Cabe señalar, que una vez sintetizada y liberada es muy difícil de eliminar (Vergara, et al., 2013).

Dada la elevada toxicidad que representan las MCs y su capacidad para bioacumularse y biomagnificarse a través de la cadena alimenticia, algunos países occidentales las consideran como uno de los principales compuestos contaminantes de las aguas dulces, superando en importancia a los metales pesados y plaguicidas (Cirés y Quesada, 2001).

Por ello, la OMS (2003) recomienda no exceder la concentración de 2 a 4 $\mu\text{g/L}$ de MC-LR en agua para uso recreativo y sugiere un límite de seguridad provisional en agua potable de 1.0 $\mu\text{g/L}$; además señala que los pacientes con diálisis renal son el grupo especialmente vulnerable a la presencia de estas toxinas en el agua, debido a que el tratamiento los expone por vía intravenosa a grandes volúmenes del líquido poniendo en riesgo su salud.

Sin embargo, ambos límites de la OMS excluyen a las demás variedades de MCs, por lo que no representan el potencial tóxico total o real que pudiese estar presente en una determinada muestra de agua.

En México, el abordaje normativo que existe sobre las MCs es escaso y actualmente no cuenta con normas vigentes que monitoreen y controlen los niveles en agua para uso y consumo humano.

Actualmente se encuentra en fase de proyecto y en proceso de revisión la actualización al Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017 "*Agua para uso y consumo humano, límites permisibles de la calidad del agua*", la cual incluye la determinación de MC-LR dentro de sus parámetros y utiliza el límite máximo permisible propuesto por la OMS (1.0 $\mu\text{g/L}$).

Del mismo modo, la COFEPRIS (2017) publicó los Métodos Revisados para la determinación de MCs contemplados para el PROY-NOM-127-SSA1-2017, en los cuales se propone el análisis de las toxinas mediante el Ensayo Inmunoenzimático ADDA, el método de Cromatografía Líquida/Espectrometría de Masas en Tándem (LC/MS/MS) y el método de Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento (HPLC) con detección ultravioleta (UV).

En lo que respecta a los grupos vulnerables, los habitantes de la ribera del Lago de Chapala representan un claro ejemplo del sector poblacional con mayor susceptibilidad a las MCs, principalmente debido a los altos índices de insuficiencia renal (IR) en la población infantil.

Alrededor del año de 1990 se detectó en la población de Agua Caliente este padecimiento con tendencia a aumentar y a principios del 2016, personal académico de la Universidad de Guadalajara realizó un censo en el que se contabilizó un total de 950 pobladores, en los cuales se observó el predominio de IR. Los resultados obtenidos mostraron que de 394 participantes, un total de 180 niños fueron positivos, lo que confirmó una prevalencia de albuminuria de 3-5 veces más alta que la reportada en la literatura internacional; y hasta la fecha se desconocen datos o estudios capaces de demostrar las causas del aumento de la enfermedad en la población (Lozano-Kasten, et al., 2017).

La pertinencia de este trabajo, se fundamenta en la presencia de floraciones potencialmente tóxicas de cianobacterias en el Lago de Chapala. Por lo que se espera encontrar en el agua la presencia de MCs.

El objetivo de esta investigación fue conocer la calidad cianotóxica del lago en la zona de influencia, así como realizar una revisión literaria de los posibles efectos a la salud para los grupos vulnerables expuestos en la población de Agua Caliente. Por otro lado, este trabajo representa la primer propuesta metodológica de estandarización de la técnica; y cuyo análisis puede fundamentar la necesidad de contar con actualizaciones en las Normas Oficiales Mexicanas y Proyectos de Norma.

Metodología

El poblado de Agua Caliente, pertenece al municipio de Poncitlán, Jalisco; éste se localiza en la parte sur del municipio, entre las coordenadas de latitud Norte 20°18'46.00"N y longitud Oeste 102°55'43.00" y cuenta con una extensión aproximada de 2 km a lo largo del Lago de Chapala (figura 2).

El muestreo se llevó a cabo en la ribera del lago y para ello se seleccionaron 5 puntos, de los cuales 3 se ubicaron en las inmediaciones del poblado y el resto en zonas alejadas y de menor afluencia por parte de los habitantes. Las colectas se llevaron a cabo de manera mensual, comenzando en febrero y concluyendo en mayo del año 2018.

Ubicación de las estaciones de muestreo en la ribera del Lago de Chapala para la determinación de Microcistinas

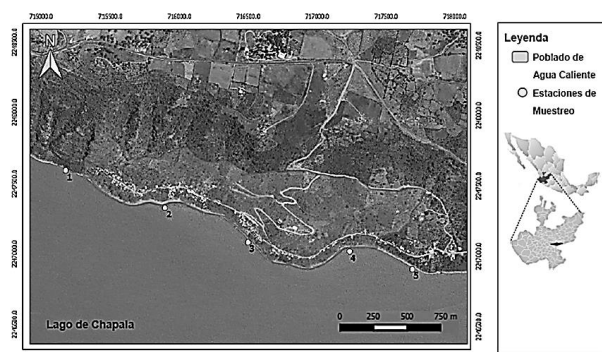


Figura 2 Mapa que muestra la ubicación de los puntos de muestreo en las inmediaciones del poblado de Agua Caliente del municipio de Poncitlán, Jalisco

Fuente: Elaboración propia, mediante el uso del software QuantumGis®

La toma de muestra se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones del Método 544 de la EPA (Shoemaker, et al., 2015).

Las muestras fueron colectadas lo más cercano posible a la orilla de la laguna y se preservaron en obscuridad y refrigeración hasta el momento de su análisis. Cabe resaltar que actualmente no hay ninguna sugerencia uniforme entre la literatura sobre cómo manejar las muestras para la determinación de MCs (Altaner, et al., 2017).

Los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Salud Pública, del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, en Pamplona, España, a cargo de la Dra. Inmaculada Saiz Martínez.

La metodología a usar para la determinación es la descrita en el *Procedimiento Normalizado de Trabajo* del propio laboratorio, el cual señala dos procesos principales: la extracción en fase sólida (SPE) y el análisis mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem UPLC-MS/MS.

Cabe señalar que una de las técnicas más utilizadas es la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, con ella se pueden determinar variantes individuales de MCs mediante el uso de estándares con una pureza del 95 % (UNESCO, 2009).

La combinación de la cromatografía líquida con métodos de espectrometría de masas permite la separación e identificación de variables de MCs con mayor confiabilidad. Convirtiéndose hoy en día en una técnica fundamental para la determinación de cianotoxinas sin estándares comerciales disponibles (Almanza, et al., 2016).

Para este trabajo, la extracción en fase sólida se llevó a cabo mediante el previo acondicionamiento del cartucho Oasis HLB empleando metanol y agua destilada, para posteriormente cargar 50 ml de la muestra a flujo constante. Posteriormente el cartucho es lavado con agua destilada para luego eluir con metanol y llevar a sequedad en corriente de nitrógeno.

Para la elaboración de la curva de calibración se prepararon 5 diluciones a partir del multipatrón de MCs de 50 ppb según se presenta en la tabla 1.

Antes de inyectar al Cromatógrafo se debe reconstruir la muestra en 400µL de AcN/Agua, al 0.1% en ácido fórmico y agitar en vortex, para posteriormente filtrar en viales e inyectar un volumen de 10µL al sistema UPLC-MS/MS.

Para la recuperación de los cromatogramas y tablas de resultados se empleó el programa MassLynx®.

	Concentración del patrón (µg/L)	µl del multipatrón de 50 ppb
R0	0	0
R1	0.2	200
R2	0.4	400
R3	1.0	1000
R4	2.0	2000
R5	3.0	3000
Control	1.0	1000

Tabla 1 Concentraciones del multipatrón de MCs, blanco y control para la elaboración de la curva de calibración. Donde R0 = blanco de reactivo (50ml de agua destilada previamente analizada), R1 – R5 = diluciones a partir del multipatrón de MCs de 50ppb, Control = solución de concentración conocida

Fuente: Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra

Resultados

	Puntos y número de muestreo						
	m1.p3	m1.p4	m1.p5	m4.p3	m5.p1	m5.p4	m5.p5
MC-LR	0.28	0.60	ND	0.019	0.24	0.184	0.107
MC-RR	ND	0.015	0.013	ND	ND	ND	ND

Tabla 2 Resultados cuantitativos de las muestras que presentaron valores positivos para las variantes de microcistinas LR y RR en µg/L, donde ND significa No Detectable

Fuente: *Elaboración Propia*

En la tabla 2 se observan los resultados cuantitativos de las MC-LR y MC-RR que oscilaron en un rango de 0.60 a 0.013 µg/L de MC-LR y MC-RR; donde la concentración más alta correspondió a la variante MC-LR y se encontró en el punto 4 del primer muestreo (m1.p4).

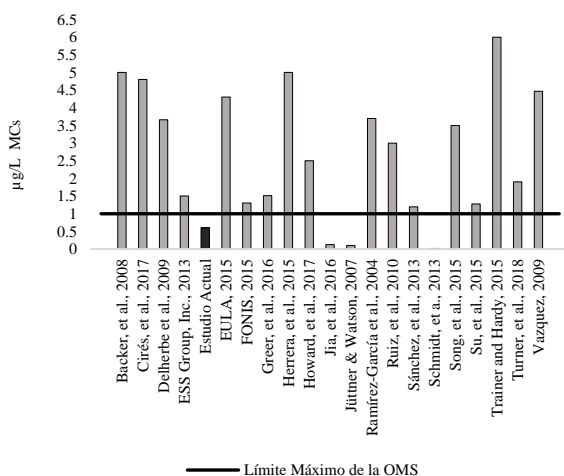


Gráfico 1 Comparación del valor máximo de MCs encontrado en el Lago de Chapala, con las concentraciones de MCs en la literatura internacional, durante el estudio de cuerpos de agua eutrofizados, mediante los análisis de HPLC y LC/MS-MS

Fuente: *Elaboración Propia*

El gráfico 1 muestra la ubicación de los resultados obtenidos en base a la literatura internacional consultada, evidenciando que las concentraciones de MCs del área de estudio son inferiores al valor guía provisional de 1.0 µg/L MC-LR en agua de bebida y de 2 a 4 µg/L MC-LR en agua para uso recreativo propuestos por la OMS.

Discusión

En base a las concentraciones de MCs obtenidas en los análisis, se puede asumir que la población de Agua Caliente se encuentra aparentemente exenta de padecer una intoxicación aguda por el uso del agua del Lago de Chapala, siguiendo la guía para medir la probabilidad relativa de efectos agudos para la salud de la OMS (tabla 3).

Sin embargo tal predicción del riesgo por la OMS, además de excluir otras variantes de MCs como MC-RR, únicamente hace referencia a los efectos agudos, sin contemplar las afecciones crónicas de carácter genotóxico, mutagénico y teratogénico, que pueden suscitarse mediante una exposición prolongada a bajas concentraciones de la toxina, durante largos periodos de tiempos.

Probabilidad Relativa de Efectos Agudos a la Salud	Cianobacterias (células/ml)	MC-LR (µg/L)
Baja	<20,000	<10
Moderada	20,000 – 100,000	10 – 20
Alta	100,000 – 10,000,000	20 – 2,000
Muy Alta	>10,000,000	>2,000

Tabla 3 Valores guía de la OMS para la Probabilidad Relativa de Efectos Agudos para la Salud, durante la exposición a cianobacterias y MC-LR en aguas destinadas para el consumo humano y recreación

Fuente: *Recuperado y modificado de Chorus y Bartram, 1999*

Los principales efectos crónicos a los que la población del área de estudio se podría estar enfrentando son el cáncer primario de hígado (PLC) reconocido como la principal patología (OMS, 1998a y Ruiz, et al., 2010), seguido por afectaciones maternas, embrionarias y fetales, dadas por la capacidad de las MCs para traspasar la barrera placentaria, provocando desde la disminución de peso corporal y daño hepático, hasta la muerte embrionaria, malformaciones y retardo en el crecimiento fetal (Moreno, et al., 2003, Bu, et al., 2006 y Pérez, et al., 2008).

Cabe señalar, que los niveles crónicos y subcrónicos de MCs en agua de bebida y baño son poco contemplados en las normativas internacionales, además de ser escasos los estudios sobre efectos genotóxicos; por ello, algunos autores como Vergara, et al., (2013) consideran que la actividad promotora tumoral de las MCs, sea de primera preocupación, puesto que representa una problemática compleja que debe ser incluida en los programas de monitoreo de la calidad del agua.

Dada la peligrosidad de la toxina, algunos países e instituciones han adoptado el límite máximo recomendado por la OMS (Brooks, et al., 2016 y 2017); no obstante, autores como Wiegand, et al., (2000), Moreno, et al., (2003), Pérez, et al., (2008), Trevino-Garrison, et al., (2015), Moy, et al., (2016), Braga (2018) y Stone (2018) consideran que las MCs representan el riesgo más importantes asociado a la calidad del agua y afirman que un valor guía único no es apropiado; por lo que proponen un valor de 0.01 µg/L, con el cual se contemplan los riesgos a la salud a largo plazo.

Por otro lado, puesto que las vías de exposición de los seres humanos a las MCs son generalmente por ingestión directa de agua con floraciones, por contacto a través del baño o por consumo de alimentos contaminados (Turner, et al., 2018), las principales rutas por las que la toxina ingresa al organismo son la oral y la dérmica, permitiendo afirmar que el uso recreacional de las aguas es la ruta de exposición a las MCs más importante (Almanza, et al., 2016).

Tomando esto en consideración, los resultados obtenidos en el agua del Lago de Chapala, alertan sobre una posible exposición crónica de la toxina por parte de la población. Principalmente fundamentada en las actividades y usos que la comunidad hace con el agua del lago, los cuales involucran desde el baño y recreación, aseo de ropa y utensilios de cocina, hasta el riego de cultivos y consumo de animales contaminados (como es el caso de peces y ganado expuesto).

Sin embargo, aún son necesarios estudios capaces de elucidar si la comunidad de Agua Caliente se ha visto afectada por la exposición crónica a las MCs, así como implementar en el Lago de Chapala programas de vigilancia y monitoreo, que contemplen metodologías capaces de capturar la variabilidad espacial y temporal de las MCs.

Agradecimiento

A la Dra. Inmaculada Saiz Martínez, Dr. Javier Aldaz Berruezo, así como a todo el equipo del Laboratorio de Salud Pública, del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, España, que hizo posible la realización de éste trabajo.

Conclusiones

Las concentraciones de MC-LR y MC-RR encontradas en el agua del Lago de Chapala oscilaron entre 0.60 y 0.013 µg/L. Situándose por debajo del límite provisional de 1.0 µg/L sugerido por la OMS; alertan sobre una posible exposición crónica de la toxina por parte de la población del área de estudio.

Dada la peligrosidad de las MCs es necesario que los futuros estudios involucren la totalidad del cuerpo hídrico así como periodos prolongados de análisis que evidencien el comportamiento espacio-temporal de las MCs.

Referencias

- Almanza M., V., Parra B., O., De M. Bicudo, C. E., Leite Sant'Anna, C., Figueroa J., R., Urrutia P., R., . . . González S., P. (2016). Guía para el estudio de cianobacterias en el sistema lacustre del Gran Concepción: Aspectos ecológicos, toxicológicos, de control-vigilancia y taxonómicos. Concepción, Chile: Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción.
- Altaner, S., Puddick, J., Wood, S., & Dietrich, D. (2017). Adsorption of ten microcystin congeners to common laboratory-ware is solvent and surface dependent. *Toxins*, 9, 129.
- Ardanaz, S. M. (2010). Determinación de microcistinas en aguas de captación y tratadas. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Belgrano.
- Azevedo, S. M., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R., & Eaglesham, G. K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru, Brazil. *Toxicology*, 181, 441-446.
- Backer, L.C., Carmichael, W., Kirkpatrick, B., Williams, C., Irvin, M., Zhou, Y., Johnson, T.B., Nierenberg, K., Hill, V.R. y Kieszak, S.M. (2008). Recreational exposure to low concentrations of microcystins during an algal bloom in a small lake. *Marine Drugs*, 6, 389-406.
- Braga N.B. (2018). Tóxicos de origen cianobacteriano. Recuperado el 4 de Julio de 2018, de: <http://www.zoetnocampo.com/Documentos/ciano/cianobacterias.htm>

Brooks, B.W., Lazorchak, J., Howard, M.D.A., Johnson, M.V., Morton, S., Perkins, D., Reavie, E., Scott, G., Smith, S. y Steevens, J.A. (2016). Are harmful algal blooms becoming the greatest inland water quality threat to public health and aquatic ecosystems? *Environmental Toxicology Chemistry*, 35, 6–13.

Brooks, B.W., Lazorchak, J., Howard, M.D.A., Johnson, M.V., Morton, S., Perkins, D., Reavie, E., Scott, G., Smith, S. y Steevens, J.A. (2017). In some places, in some cases, and at some times, harmful algal blooms are the greatest threat to inland water quality. *Environmental Toxicology Chemistry*, 36, 1125–1127.

Bu, Y. Z., Li, X. Y., Zhang, B. J., Chung, I. K., & Lee, J. A. (2006). Microcystins cause embryonic toxicity in mice. *Toxicol*, 48(8), 966-972.

Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 7(5), 1393-1407.

Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Great Britain: St Edmundsbury Press, Bury St Edmunds, Suffolk.

Cirés G., S., & Quesada C., A. (2011). *Catálogo de cianobacterias planctónicas*. España: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Cirés, S., Casero, C., & Quesada, A. (2017). Toxicity at the edge of life: a review on cyanobacterial toxins from extreme environments. *Marine Drugs*, 15, 233.

COFEPRIS. (2017). NOM-127-SSA1-1994. Métodos Revisados Para La Determinación De Microcistina; Btex Y Estireno; Y Ácidos Haloacéticos. Agua para uso y consumo humano. Metodo para la determinación de microcistinas y nodularinas en agua de uso y consumo humano por extracción de fase sólida y cromatografía líquida/espectrometría de masas en tándem (lc/ms/ms). Recuperado el 11 de Enero de 2018, de: <https://nom-127-ssa1.blogspot.mx/2017/04/metodos-revisados-para-la-determinacion.html>

De Luca, S. J., Pegorer, M. G., & De Luca, M. A. (2010). De Luca, S. J., Pegorer, M. G., & de Luca, M. A. (2010). Oxidação de microcistinas-LR em águas pelo íon ferrato (VI). *Eng Sanit Ambient*, 15(1), 5-10.

Delherbe, N., K. Soto, I. Echenique & M. Vásquez. (2009). Presence of microcystins-producing cyanobacteria in the recently harmful algal blooms in the reservoir Rapel, Chile: toxicological and phylogenetic analysis. XXXI Congreso Chileno de Microbiología. Santa Cruz, Chile.

DOF. (2017). Diario Oficial de la Federación. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-127-SSA1-2017, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. Recuperado el 8 de Enero de 2018, de <http://www.cofemersimir.gob.mx/expedientes/20393>

ESS Group. Inc. (2013). *Cyanobacteria monitoring program 2012 report*. Rhode Island Ridem Req. No. 1180565/1194117. USA: Rhode Island Department of Environmental Management Office of Water Resources.

EULA. (2015). *Diagnóstico y Caracterización del estado trófico del lago Vichuquen*. Informe de avance. Centro EULA. Chile.

Falconer, I. R. (1999). An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. *Environmental Toxicology*, 14(1), 5-12.

FONIS. (2015). *Identificación, monitoreo y evaluación del riesgo de la población del Gran Concepción ante la presencia de cianobacterias y cianotoxinas*. Informe final proyecto FONIS CONICYT SA 13I20211.

Greer, B., McNamee, S.E., Boots, B., Cimarelli, L., Guillebault, D., Helmi, K., Marcheggiani, S., Panaiotov, S., Breitenbach, U. and Akçaalan, R. (2016). A validated uplc–ms/ms method for the surveillance of ten aquatic biotoxins in european brackish and freshwater systems. *Harmful Algae*, 55, 31–40.

- Herrera, N., Flórez, M., & Echeverría, L. (2015). Evaluación preliminar de la reducción de microcistina-LR en muestras de florecimientos a través de sistemas sedimentarios. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 31(4), 405-414.
- Howard, M., Nogada, C., Kudela, R., Hayashi, K., Tatters, A., Caron, D., . . . Stein, E. (2017). Microcystins prevalence throughout lentic waterbodies in Coastal Southern California. *Toxins*, 9, 231.
- Jia, J., Chen, Q., & Lauridsen, T. (2016). A systematic investigation into the environmental fate of microcystins and the potential risk: study in Lake Taihu. *Toxins*, 8, 170.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J.S., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B., de Melo Filho, D.A., Lyra, T.M. y Barreto, B.S.T. (1998). Liver failure in death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine*, 338, 873–878.
- Jüttner, F. & S. Watson, 2007. Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisoborneol in Source Waters. *Appl. Environmental Microbiology*, 73(14): 4395-4406.
- Lozano-Kasten, F., Sierra-Díaz, E., Celis-De la Rosa, A. J., Soto G., M. M., & Peregrina L., A. A. (2017). Prevalence of albuminuria in children living in a rural agricultural and fishing subsistence community in Lake Chapala, México. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(12), 1577.
- Martínez S., M. (2006). Mecanismos fisicoquímicos de la degradación de la toxina Microcistina-LR. D.F. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moreno, I. M. (2002). Microcistinas: presencia, determinación y estudios. España: Universidad de Sevilla.
- Moreno, I., Repetto, G., & Carneán, A. (2003). Interés toxicológico de las microcistinas. *Revista de Toxicología*, 20(3), 159-165.
- Moy, N.J., Dodson, J., Tassone, S.J., Bukaveckas, P.A. y Bulluck, L.P. (2016). Biotransport of algal toxins to riparian food webs. *Environmental Science & Technology*, 50, 10007–10014.
- OMS. (1998a). Capítulo 7: Algas y cianobacterias en aguas recreativas. Volumen 1: Aguas costeras y aguas dulces. Ginebra: World Health Organisation.
- OMS. (2003). Guidelines for safe recreational water environments. Volumen 1: Coastal and fresh waters. Geneva: World Health Organization.
- Pérez, D. S., Soraci, A. L., & Tapia, M. O. (2008). Cianobacterias y cianotoxinas: rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. *Analecta Veterinaria*, 28(1), 48-56.
- Pouria, S., De Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R. L., Barreto V., T. S., Ward, C. J., . . . Codd, G. A. (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, 352(9121), 21-26.
- Ramírez-García, P., Martínez-Romero, E., Martínez-Salgado, M. D., y Eslava-Campos, C. A. (2004) Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana. México, Instituto Nacional de Ecología.
- Ruiz, M., Rodríguez, M. I., Ruibal, A. L., Gonzalez, I., Pellicioni, P., Biagi, M., & Lerda, D. (2010). Efectos en la salud por exposición al agua con microcistinas. III Congreso Internacional sobre Gestión y Tratamiento Integral del Agua. Córdoba, Argentina: Instituto Nacional del Agua.
- Sánchez Z., M., Áviles F., M., González E., L., Ramírez S., N., & Moeller C., G. (2013). Proyecto "Desarrollo de metodologías y su aplicación para la determinación de cianobacterias y de compuestos emergentes en cuerpos de agua residual y potable. TC1322.1 Informe Final. México.: IMTA. Coordinación de Tratamiento y Calidad del Agua y SEMARNAT.
- Schmidt, J., Shaskus, M., Estenik, J., Oesch, C., Khidekel, R., & Boyer, G. (2013). Variations in the microcystin content of different fish species collected from a eutrophic lake. *Toxins*, 5, 992-1009.

Shoemaker, J., Tettendorst, D., & Delacruz, A. (2015). Method 544. Determination Of Microcystins And Nodularin In Drinking Water By Solid Phase Extraction And Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Washington, DC.: U.S. Environmental Protection Agency. Recuperado el 26 de Junio de 2018, de https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=306953

Song, H., Coggins, L. X., Reichwaldt, E. S. and Ghadouani A. (2015). The importance of lake sediments as a pathway for microcystin dynamics in shallow eutrophic lakes. *Toxins*, 7, 900-918.

Stone D. (2018). Cyanobacteria and their toxins. Recuperado el 4 de Julio de 2018, de: www.oregon.gov/DHS/ph/envtox/docs/algaetoxins.pdf

Su, X., Xue, Q., Steinman, A., Zhao, Y., & Xie, L. (2015). Spatiotemporal dynamics of microcystin variants and relationships with environmental parameters in lake Taihu, China. *Toxins*, 7, 3224-3244.

Trainer, V., & Hardy, F. (2015). Integrative monitoring of marine and freshwater harmful algae in Washington State for public Health Protection. *Toxins*, 7, 1206-1234.

Trevino-Garrison, I., DeMent, J., Ahmed, F.S., Haines-Lieber, P., Langer, T., Menager, H., Neff, J., Van der Merwe, D. y Carney, E. (2015). Human illnesses and animal deaths associated with freshwater harmful algal blooms-kansas. *Toxins* 2015, 7, 353–366.

Turner, A., Dhanji-Rapkova, M., O'Neill, A., Coates, L., Lewis, A., & Lewis, K. (2018). Analysis of Microcystins in cyanobacterial blooms from freshwater bodies in England. *Toxins*, 10, 39.

UNESCO. (2009). Cianobacterias planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión. Montevideo, Uruguay: Administración de las Obras Sanitarias del Estado.

Vázquez, M. 2009. Florecimientos algales nocivos en el Lago Rapel. Pontificia Universidad Católica de Chile Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio Microbiología y Toxicología Ambiental.

Vergara, Y., Moya A., Peleato S. M. L., Sevilla E. y López S. (2013). Informe científico-técnico. Nuevos riesgos para el agua potable: Microcistina. Mejora de la calidad del agua de consumo por eliminación de toxinas. OX-CTA y Dpto. Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza.

Wiegand, C., Pflugmacher, S., Giese, M., Frank, H. y Steinberg, C. (2000). Uptake, toxicity, and effects on detoxication enzymes of atrazine and trifluoroacetate in embryos of zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 122–131.

Predicción de pacientes con diabetes a través de un modelo de aprendizaje supervisado de Minería de Datos

Prediction of patients with diabetes through a supervised learning model of Data Mining

MEDINA-VELOZ, Gricelda*†, LUNA-ROSAS, Francisco Javier, TAVAREZ-AVENDAÑO, Juan Felipe y MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Del Rocío

*Universidad Tecnológica del Norte de Aguascalientes, Aguascalientes Ags., México
Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Aguascalientes Ags, México.*

ID 1^{er} Autor: *Gricelda, Medina-Veloz* / ORC ID: 0000-0002-1955-3620, arXiv Author ID: GrisArvix18, CVU CONACYT ID: 228438

ID 1^{er} Coautor: *Francisco Javier, Luna-Rosas*

ID 2^{do} Coautor: *Juan Felipe, Tavarez-Avenidaño*

ID 3^{er} Coautor: *Ma. Del Rocío, Martínez-Hernández*

Recibido Marzo 20, 2018; Aceptado Junio 22, 2018

Resumen

En la actualidad hay una gran cantidad de datos relacionados con los sistemas médicos y se cuenta con métodos eficientes para encontrar la información apropiada, que ayude a relacionar dicha información, en la elaboración de un pre diagnóstico o diagnóstico médico de diferentes tipos de enfermedades. La minería de datos es una de las mejores soluciones para este propósito. En este trabajo se presenta un estudio sobre la aplicación de un modelo de aprendizaje supervisado de minería de datos, para la predicción de pacientes con diabetes, considerando varias variables que representan factores de riesgo para el padecimiento de dicha enfermedad. El modelo se construyó con los métodos de clasificación más conocidos como, las redes bayesianas, las máquinas de soporte vectorial, los métodos de potenciación entre otros. Estos métodos fueron calibrados con los parámetros que permitía el modelo en la plataforma de desarrollo R, a través de la técnica denominada cross-validation.

Minería de datos, Aprendizaje supervisado, diabetes

Abstract

Today there is a large amount of data related to medical systems and efficient methods are available to find the appropriate information, which helps to relate this information, in the preparation of a prediagnosis or medical diagnosis of different types of diseases. Data mining is one of the best solutions for this purpose. This paper presents a study on the application of a supervised learning model of data mining, for the prediction of patients with diabetes, considering several variables that represent risk factors for the suffering of said disease. The model was built with the best known classification methods, such as Bayesian networks, support vector machines, Ada Boost methods among others. These methods were calibrated with the parameters allowed by the model in the R development platform, through the technique called cross-validation.

Data mining, Supervised learning, Diabetes

Citación: MEDINA-VELOZ, Gricelda, LUNA-ROSAS, Francisco Javier, TAVAREZ-AVENDAÑO, Juan Felipe y MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Del Rocío. Predicción de pacientes con diabetes a través de un modelo de aprendizaje supervisado de Minería de Datos. Revista de Ciencias de la Salud. 2018. 5-15: 21-28.

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: gricelda.medina@utna.edu.mx)

† Investigador contribuyendo como primer Autor

Introducción

Cada vez es más común, encontrar en las organizaciones aplicaciones de minería de datos utilizadas para el análisis de la información. Debido a las grandes ventajas, que esta tecnología ofrece, en diversas áreas, las relacionadas con el cuidado de la salud también han optado por su implementación. En el análisis de datos médicos hay una gran cantidad de datos involucrados, incluidos los registros médicos de los pacientes, los historiales clínicos e incluso detalles personales de cada uno de ellos.

Con esta información, las técnicas de minería de datos ayudan a analizar de manera detallada, los bancos de datos existentes, y mediante análisis estadísticos, se han identificado factores de riesgo que están asociados con enfermedades cardiovasculares como la diabetes, entre los cuales se encuentran: la edad, la presión arterial, el colesterol, la hipertensión, y los antecedentes familiares. Todos estos estudios ayudan al profesional de la salud a identificar si en un paciente existe riesgo de enfermedad, apoyándose en diferentes técnicas de minería de datos para obtener una mayor precisión en el prediagnóstico y diagnóstico de este tipo de enfermedades.

La diabetes es considerada un problema de salud pública mundial y está considerada la principal causa de muerte ligada a enfermedades cardiovasculares. En México el aumento de la masa grasa, manifestada en exceso de peso (sobrepeso y obesidad) es el problema nutricional más frecuente en la población.

El Gobierno ha respondido a este grave problema de salud, con el desarrollo y puesta en marcha de una política nacional de prevención de obesidad y sus comorbilidades denominada: Estrategia Nacional para el Control y la Prevención del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes. Como base de la evaluación de ésta estrategia, para el control la prevención del sobrepeso, la obesidad y la diabetes se realizó la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016, enfocada primordialmente a aportar información que permita conocer la magnitud, distribución y tendencias del sobrepeso, la obesidad y las enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición y la evolución de los factores de riesgo.

Los datos de esta encuesta de salud, fueron tomados para la evaluación del modelo predictivo de minería de datos evaluado en este trabajo.

Factores de riesgo de la diabetes.

La Asociación Americana de la Diabetes (American Diabetes Association, ADA) ha recomendado pautas para la detección de la diabetes y recomienda que se realicen análisis las personas con un índice de masa corporal superior a 23 en las mujeres y 25 en los varones, independientemente de su edad, y que tengan factores de riesgo adicionales, como presión arterial, colesterol, antecedentes de enfermedades cardíacas y parientes cercanos con diabetes. Las personas mayores de 45 años, con controles cada tres años a partir de entonces [2].

El riesgo relativo de padecer diabetes es de 3.5 para los descendientes familiares de primer grado de personas con esa enfermedad y de 6.1 cuando lo son ambos progenitores. En el caso del sobrepeso y la obesidad aumentan el riesgo de padecer diabetes tipo 2, ya que esto provoca que las células del cuerpo se vuelvan resistentes a la insulina y estas no puedan bajar los niveles de glucosa. El tejido adiposo no sólo actúa como almacén de moléculas grasas, sino que sintetiza y libera a la sangre numerosas hormonas relacionadas con el metabolismo y la regulación de la ingesta [21].

En relación al colesterol, las moléculas involucradas en la fase temprana del desarrollo de la aterosclerosis, son las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las mayores moléculas transportadoras de colesterol en la sangre. El incremento en las lipoproteínas, está asociado a un aumento en el riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular [5].

Modelos de aprendizaje supervisado

El objetivo de un modelo general de aprendizaje supervisado es, dado un conjunto de registros, (cada registro contiene una o varias variables predictoras y una variable de clase llamada variable a predecir), encontrar la clase a la cual pertenecería cada registro con el mayor grado de precisión posible [6],[13].

Existe un enfoque, de aprendizaje supervisado denominado uno-fuera (Leave-one-out cross-validation), que implica separar los datos de manera que para cada iteración se tenga solo un registro de prueba y el resto de los datos para entrenamiento, calculando el error con el promedio de errores cometidos, y aunque con este enfoque la estimación del error es mucho más estable, y no tiende de a sobre estimarse, tiene una desventaja considerable, y es que, el tiempo de ejecución es muy alto ya que se tiene que construir el modelo n veces n dependiendo de la cantidad de registros considerados para la evaluación [25].

El método general de un modelo predictivo es trabajar con el enfoque (validation test approach) tabla de aprendizaje y tabla de testing, este modelo, se basa en dividir al azar un conjunto de datos en dos tablas, una tabla de aprendizaje y una tabla de prueba o testing. En la tabla de aprendizaje, está la historia general de los datos, donde se entrena el modelo aplicando algún algoritmo de clasificación, este modelo se aplica a la tabla de prueba con parte de la información, que se utiliza para evaluar la calidad los resultados obtenidos del modelo. Los dos problemas principales a los que se enfrenta este enfoque son, que la estimación del error tiende a ser muy variable dependiendo de cuales datos se quedaron en la tabla de aprendizaje y cuales en la tabla de testing. Además de que el error tiende a sobrestimarse [9].

Una propuesta de mejora considerable a este esquema general de clasificación, es aplicar la técnica denominada cross-validation, técnica propuesta por los doctores Bradley Efron y Rob Tibshirani de la Universidad de Standford [7], [14]. Para lo cual proponen el enfoque llamado validación cruzada, usando k grupos (k-fold cross-validation), donde los datos se dividen en k subconjuntos. Un subconjunto se utiliza como datos de prueba y el resto (k-1) como datos de entrenamiento. Este proceso se repite k iteraciones con cada posible subconjunto de datos de prueba. El error se calcula con el promedio de cada iteración.

$$CV_{(k)} = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k MSE_i \quad (1)$$

Los métodos de clasificación con los que se construyó el modelo predictivo de minería de datos de describen a continuación:

A. Máquinas de soporte vectorial (MSV)

Es una generalización de una técnica llamada análisis discriminante, pero obteniendo mejores resultados, ya que además de encontrar el hiperplano de separación, se agrega que el margen de separación entre clases sea lo más amplio posible.

La idea es encontrar una función lineal $g(x)$ que determine el plano de soporte, para separar los puntos de acuerdo al valor de su etiqueta en dos hiperplanos diferentes, las funciones que muestran el cálculo del soporte se muestran a continuación [20]:

$$g(x) = w \cdot x + b$$

para: $w \cdot x + b > 0$, $w \cdot x + b < 0$
 $w \cdot x_i + b + 1$ para $y_i = +1$ (hiperplano "positivo")
 $w \cdot x_i + b - 1$ para $y_i = -1$ (hiperplano "negativo")

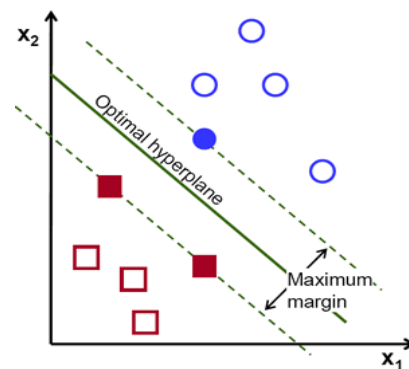


Figura 1 Esquema Máquina se Soporte Vectorial

B. Árboles de decisión

Árbol de decisión adultos_cronicas_diabetes.csv \$ diabet

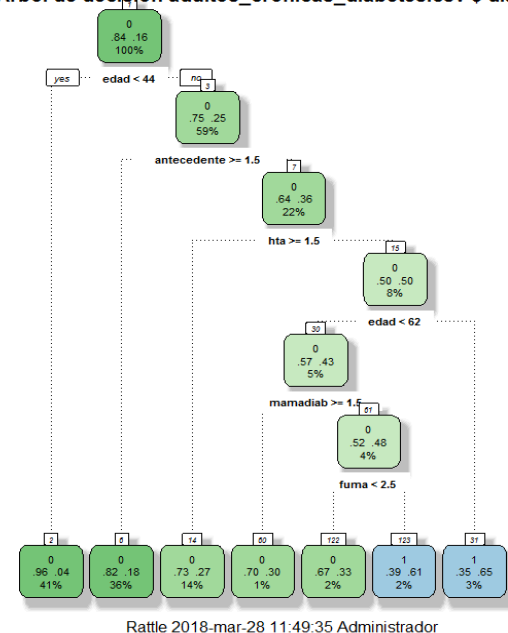


Figura 2 Árbol de decisión predicción de diabetes

Un árbol plantea de forma esquemática las alternativas disponibles de clasificación de variables que se puedan encontrar, Figura 2. Está constituido por nodos, donde cada nodo denota el resultado de una prueba a una variable y cada rama del árbol representa el resultado de la prueba anterior. Finalmente cada nodo hoja indica la clase a la cual pertenece cada registro [13], [3].

A partir de la tabla de entrenamiento se construye el árbol con el método CART (Classification and Regression Trees), creado por Breiman, Friedman, Olsen y Stone en 1984, aplicando el algoritmo Hunt [3], donde, si todos los registros D_t pertenecen a la misma clase y_t , entonces t es un nodo hoja que se etiqueta como y_t . Si D_t tiene registros que pertenecen a más de una clase, se elige una variable para dividir los datos en subconjuntos más pequeños. Este procedimiento se aplica recursivamente a cada subconjunto hasta que todos los registros pertenezcan a una sola clase o hasta alcanzar un margen aceptable de tolerancia [28], [3].

C. Métodos de consenso (Bagging)

Los métodos Bagging son una forma efectiva de generar un ensamble de clasificadores, para este caso en particular, se hace un ensamble de clasificadores de árboles de decisión denominado bosques aleatorios, donde la idea es tomar m muestras aleatorias con reemplazo (Boostraps) de los datos originales y luego se aplica en cada una de ellas un método predictivo para luego con algún criterio establecer un consenso de todos los resultados, Figura 3.

El consenso puede ser un promedio o un promedio ponderado basado en cuál método obtuvo los mejores resultados. El consenso más usado es el que obtenga la “mayor cantidad de votos”

Cada muestra de arranque (bootstrap) tiene el mismo tamaño que los datos originales. Debido a que el muestreo se realiza con reemplazo, algunos individuos pueden aparecer varias veces en el mismo conjunto de entrenamiento, mientras que otros podrían no aparecer nunca [17].

Teorema: En promedio, una muestra de arranque (bootstrap) contiene aproximadamente 63% de los datos de entrenamiento originales.

Prueba: Cada individuo tiene una probabilidad de $1 - (1 - 1/n)^n$ de ser seleccionados en cada D_j . Si n es suficientemente grande, esta probabilidad converge a $1 - 1/e = 0.632$.

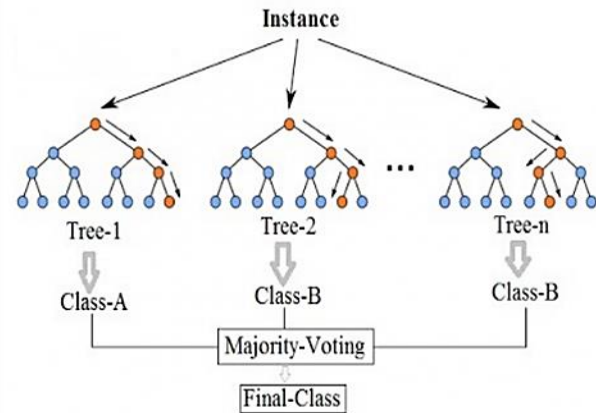


Figura 3 Esquema Métodos de consenso

D. Métodos de potenciación (AdaBoost)

Es un método de clasificación binario, donde la idea es tomar una muestra aleatoria de los datos originales y aplicar sobre ésta un método clasificatorio, luego aumentar el peso (potenciar) a los individuos mal clasificados para que en la siguiente aplicación del método clasificatorio se enfoque más en estos individuos mal clasificados, mejorando su clasificación, y así sucesivamente.

Finalmente se hace un consenso con un promedio ponderado de los clasificadores, la diferencia con los métodos de consenso es que aquí se aumenta la probabilidad de aquellos individuos mal clasificados en cambio en los métodos de consenso todos los individuos tienen siempre la misma probabilidad ($1/n$) de ser mal clasificados. El clasificador final, es un promedio ponderado de todas las clasificaciones anteriores: El algoritmo utilizado es el denominado AdaBoost.M1 con los siguientes pasos [10]:

Se inicializan todos los pesos con $w_i = 1/N$, $i=1,2,\dots,N$

Para $m=1$ hasta M :

Se corre el clasificador $G_m(X)$ con los pesos w_i .

Se calcula el error del clasificador con:

$$\text{Err}_m = \frac{\sum_{i=1}^N w_i I(y_i \neq G_m(x_i))}{\sum_{i=1}^N w_i} \quad (2)$$

Se calcula $\alpha_m = \log((1 - \text{err}_{rm}) / \text{err}_{rm})$ (3)

Se cargan los pesos $w_i \leftarrow w_i * \exp[\alpha_m * I(y_i \neq G_m(x_i))]$, $i = 1, 2, \dots, N$ (4)

Salida $G(x) = \text{sign} [\sum_{m=1}^M \alpha_m G_m(x)]$ (5)

E. Métodos KNN

La idea es seleccionar un número k a priori y se buscan los k individuos más cercanos al individuo que se quiere clasificar. Se cuentan a qué clase pertenecen dichos individuos y el individuo a clasificar entra en la clase con mayoría encontrada en los k individuos seleccionados, como puede observarse en la Figura 4, [27].

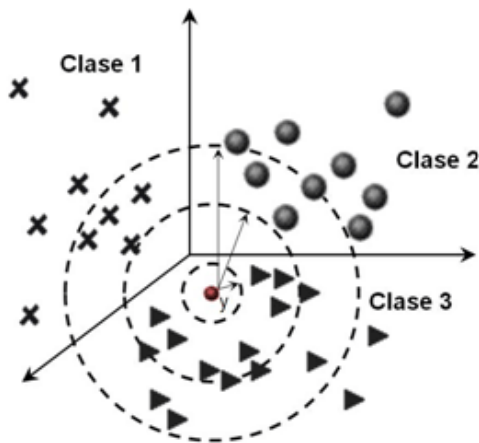


Figura 4 Clasificación por KNN

F. Métodos de Baye

Los modelos bayesianos se basan en el teorema de Bayes [22]. Sea A_1, A_2, \dots, A_k una colección de k eventos mutuamente excluyentes con $P(A_i) > 0$ para $i = 1, \dots, k$. Entonces para cualquier otro evento B para el cual $P(B) > 0$, se calcula la probabilidad $P(A_i | B)$, entonces:

$$P(A_i | B) = \frac{P(A_i \cap B)}{P(B)} = \frac{P(B | A_i) P(A_i)}{\sum_{j=1}^k P(B | A_j) P(A_j)} \quad (6)$$

$j = 1, \dots, k$

Calibración del modelo predictivo.

El modelo creado para este conjunto de datos, se hizo tomando como variables predictoras, la hipertensión, el colesterol, los triglicéridos, los antecedentes familiares de diabetes y la edad, para así poder determinar el valor de la variable a predecir diabetes.

El modelo se creó utilizando el paquete estadístico de R, al cual se le instaló el paquete caret que permite crear los grupos de datos o k -folds necesarios para hacer el proceso de cross validation. En la calibración del modelo, para el método de máquinas de soporte vectorial, se evaluó con los diferentes kernel (linear, polinomial, radial basis o sigmoid) utilizados en la función svm (support vector machine) del paquete e1071. El kernel que arrojó los mejores resultados fue el kernel linear.

En el caso del método de bosques aleatorios, se utilizó el paquete randomForest y la clase con el mismo nombre, al igual que con el método de potenciación utilizando el paquete ada. En lo referente al método de árboles de decisión, se utilizó el paquete rpart con el algoritmo CART+Pruning(poda) [11]. En el método KNN, se utilizó la función train.kknn del paquete kknn, con valor en la variable kmax = 4, para el número de vecinos más cercanos a considerar en la clasificación. Finalmente para el método Bayes, se utilizó el paquete e1071 con la función naiveBayes.

Una vez calibrados los métodos de manera individual se pusieron a competir entre ellos para saber cuál es el método, que mejor clasifica a los individuos que padecen diabetes, de aquellos que no, usando el enfoque validación cruzada. El proceso de cross validation se generó 50 veces para asegurarse que el nivel de error se estabilizara y dentro de cada proceso de cross validation se generaron 10 grupos (k -folds). Se alimentó el modelo con los datos de la encuesta nacional de salud y nutrición de medio camino 2016 (ENSANUT MC 2016) [26], en la cual el rubro de salud, estaba dividido en 3 categorías, calidad de vida, hipertensión y enfermedades crónicas. La base de datos utilizada fue la de la categoría enfermedades crónicas, conformada por 8825 registros pertenecientes a toda la república mexicana.

Trabajos relacionados

Efraín Alberto Oviedo Carrascal [4], hizo una revisión de avances y tendencias de la minería de datos en el servicio de la salud, entre los principales avances que menciona están diversas técnicas, metodologías y plataformas que han sido utilizadas en el sector salud.

En [12] se presenta una aplicación de minería de datos a pacientes pre-diabéticos, para detectar patrones de comportamiento y apoyar la toma de decisiones en futuros casos de personas con esta enfermedad, utilizando para el análisis de datos un clustering con el método Kmeans y una predicción con árboles de decisión usando Weka. [1] Expone el desarrollo de las fases de comprensión y preprocesado de datos de la metodología CRISP-DM 1.0., con un caso práctico asociado al objetivo de determinar factores influyentes en el padecimiento de diabetes, usando como herramienta de apoyo Microsoft Excel 2007. [19] Barrientos hace una evaluación del potencial de Redes Bayesianas para la clasificación de datos médicos, utilizando bases de datos relacionadas con padecimientos médicos tales como Cáncer de Mama, Tumores Cancerígenos, Diabetes y Hepatitis, para determinar si las Redes Bayesianas son una herramienta eficaz y confiable en la toma de decisiones en el ámbito médico para el diagnóstico y tratamiento. En [18], se hace una evaluación del desempeño de los modelos de clasificación construidos a partir del uso de algoritmos de clasificación provistos R y Rapid Miner.

Resultados

En los modelos predictivos o de aprendizaje supervisado, a diferencia de los métodos de aprendizaje no supervisado, se puede entrenar al modelo observando sus resultados, con la intención de mejorarlos, tanto como sea posible, a través de la manipulación de sus parámetros buscando con ello el logro de los objetivos propuestos.

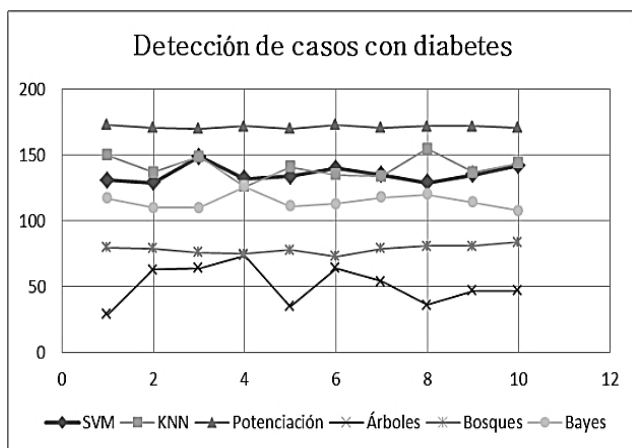


Figura 5 Resultados de clasificación en detección de diabetes

En la selección del método más adecuado, y que ofrece los mejores resultados para este conjunto de datos, se encontró que los métodos de potenciación, son el método de clasificación debido a que más pacientes con diabetes detecta, en contra parte, con el método de árboles de decisión que es el que menos casos detectó, como puede observarse en la figura 5.

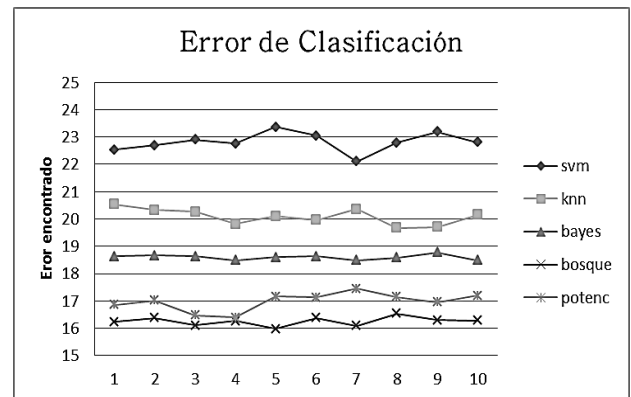


Figura 6 Resultados de clasificación en detección de error de diagnóstico

En la Figura 7, se hace un comparativo de los métodos de clasificación del modelo predictivo, que muestra el grado de acierto generado por cada método comparado con su grado de error. En la figura se puede observar, que los métodos de bosques aleatorios y los métodos de potenciación, son los que mejor desempeño han mostrado, siendo mínima su variación, pero en la gráfica mostrada en la Figura 5, se puede observar claramente, que el número de casos con diabetes, detectados por el método de potenciación es considerablemente mayor al número de casos detectados por el método de bosques aleatorios. Lo cual indica que, en este modelo predictivo, los métodos de potenciación, son el método más adecuado para evaluar la información de pacientes con diabetes publicada por la encuesta nacional de salud y nutrición de medio camino 2016 (ENSANUT MC 2016) [26].

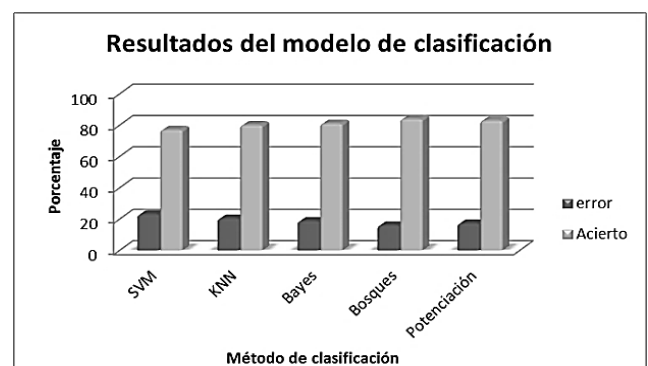


Figura 7 Comparativo de clasificación acierto/error de resultado de diagnóstico

Conclusiones

Hoy por hoy, se cuenta con diversos estudios de minería de datos, que buscan hacer aportes al campo de las ciencias de la salud, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de las personas, previniendo enfermedades, y facilitando la toma de decisiones, al analizar la información proveniente de diferentes fuentes de información, incluyendo la información publicada por las instituciones de salud pública.

En este trabajo, se presentó un estudio sobre la aplicación de un modelo predictivo de minería de datos, a los datos publicados por la secretaría de salud, referentes a la encuesta nacional de salud, específicamente en el rubro de enfermedades crónicas degenerativas como la diabetes. El modelo predictivo se calibró, utilizando la técnica de cross validation, y el método que mejores resultados presentó fue el método de potenciación, ya que fue el método que más casos de diabetes detectó y el que menos error de clasificación produce.

Referencias

- [1] Acosta-Sánchez, Rolando & Rosete-Suárez, Alejandro & Rodríguez Díaz, Alfredo & Antonio Echeverría, José. (2008). Empleo de técnicas de Minería de Datos para la predicción de la diabetes. Preprocesado de datos.
- [2] AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, et al. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 2010, vol. 33, no Suppl 1, p. S62.
- [3] Breiman, L., Friedman, J. H., Olshen, R. A., & Stone, C. J. (1984). *Classification and Regression Trees*. Monterey, CA: Wadsworth. Wadsworth Statistics/Probability Series.
- [4] Carrascal, E. A. O., Carrascal, A. I. O., & Saldarriaga, G. L. V. (2015). Minería de datos: Aportes y tendencias en el servicio de salud de ciudades inteligentes. *Revista Politécnica*, 11(20), 111-120.
- [5] Contreras, Freddy, et al. Determinación del colesterol no-HDL, en pacientes diabéticos e hipertensos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 2008, vol. 27, no 1, p. 76-78.
- [6] Dunham, M. H. (2006). *Data mining: Introductory and advanced topics*. Pearson Education India.
- [7] Efron, B., & Gong, G. (1983). A leisurely look at the bootstrap, the jackknife, and cross-validation. *The American Statistician*, 37(1), 36-48.
- [8] Flores de la Torre, R. I. (2014). Análisis Comparativo de Árboles de Decisión y Máquina de Vectores Soporte para conjuntos de datos de Diabetes y Hepatitis.
- [9] FRANKLIN, James. The elements of statistical learning: data mining, inference and prediction. *The Mathematical Intelligencer*, 2005, vol. 27, no 2, p. 83-85.
- [10] FRIEDMAN, Jerome, et al. Additive logistic regression: a statistical view of boosting (with discussion and a rejoinder by the authors). *The annals of statistics*, 2000, vol. 28, no 2, p. 337-407.
- [11] Giudici, P. (2005). *Applied data mining: Statistical methods for business and industry*. John Wiley & Sons.
- [12] Gómez, H. J. H. (2014). Aplicación de minería de datos a información de pacientes prediabéticos. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*, 1(1).
- [13] Han, J., Pei, J., & Kamber, M. (2011). *Data mining: concepts and techniques*. Elsevier.
- [14] Hastie, T., Tibshirani, R., & Friedman, J. (2009). Unsupervised learning. In *The elements of statistical learning* (pp. 485-585). Springer, New York, NY.
- [15] http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/imss_657_13_dxytxdedmenadultovulnerable/imss_657_13_dxytxde_dm_en_adultovulnerableger.pdf Fecha de consulta 03/05/2018
- [16] <https://cran.rproject.org/web/packages/e1071/vignettes/svmdoc.pdf>
- [17] Liaw, Andy, et al. Classification and regression by randomForest. *R news*, 2002, vol. 2, no 3, p. 18-22.

[18] Marín-Castro, H. M., & Franco-Vázquez, P. E. ESTUDIO DE HERRAMIENTAS DE MINERÍA DE DATOS PARA LA TAREA DE CLASIFICACIÓN. Una Publicación del Instituto Tecnológico de Cd. Victoria, 1.

[19] Martínez, R. E. B., Ramírez, N. C., Mesa, H. G. A., Rabatte, I., Suárez, P. P. L., Trejo, M. D. C. G., & Morales, M. S. L. B. (2008). Evaluación del potencial de redes bayesianas en la clasificación en datos médicos. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 8(1), 33-37.

[20] MEYER, David; WIEN, FH Technikum. Support vector machines. *R News*, 2001, vol. 1, no 3, p. 23-26.

[21] MURILLO, A. Zugasti; ESTEBAN, B. Moreno. Obesidad como factor de riesgo cardiovascular. *Hipertensión y riesgo vascular*, 2005, vol. 22, no 1, p. 32-36.

[22] Murphy, K. P. (2006). *Naive bayes classifiers*. University of British Columbia, 18.

[23] Paolo. "Applied Data Mining: Statistical Methods for Business and Industry". Wiley, 2005. Pp 105, 285-286.

[24] R Development Core Team (2006). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL www.R-project.org.

[25] rpubs <http://rpubs.com/orodriguez/13316>

[26] Secretaria de Salud, Mexico. 2016. *Encuesta Nacional de Salud Alimentaria. Estrategia contra el Sobrepeso y Obesidad*, Mexico.

[27] Schliep, K., Hechenbichler, K., & Schliep, M. K. (2016). Package 'kkn'.

[28] Therneau, T., Atkinson, B., Ripley, B., & Ripley, M. B. (2018). Package 'rpart'. Available online: cran.ma.ic.ac.uk/web/packages/rpart/rpart.pdf.

Instrucciones para la Publicación Científica, Tecnológica y de Innovación

[Título en Times New Roman y Negritas No. 14 en Español e Inglés]

Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1^{er} Autor†*, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1^{er} Coautor, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 2^{do} Coautor y Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 3^{er} Coautor

Institución de Afiliación del Autor incluyendo dependencia (en Times New Roman No.10 y Cursiva)

International Identification of Science - Technology and Innovation

ID 1^{er} Autor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 1^{er} Autor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 1^{er} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 1^{er} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 2^{do} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 2^{do} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 3^{er} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 3^{er} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

(Indicar Fecha de Envío: Mes, Día, Año); Aceptado (Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Resumen (En Español, 150-200 palabras)

Objetivos
Metodología
Contribución

Indicar 3 palabras clave en Times New Roman y Negritas No. 10 (En Español)

Resumen (En Inglés, 150-200 palabras)

Objetivos
Metodología
Contribución

Indicar 3 palabras clave en Times New Roman y Negritas No. 10 (En Inglés)

Citación: Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1er Autor†*, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1er Coautor, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 2do Coautor y Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 3er Coautor. Título del Artículo. Revista de Ciencias de la Salud. Año 1-1: 1-11 (Times New Roman No. 10)

* Correspondencia del Autor (ejemplo@ejemplo.org)

† Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del Artículo

Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

En el *contenido del Artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No. 10 y Negrita]

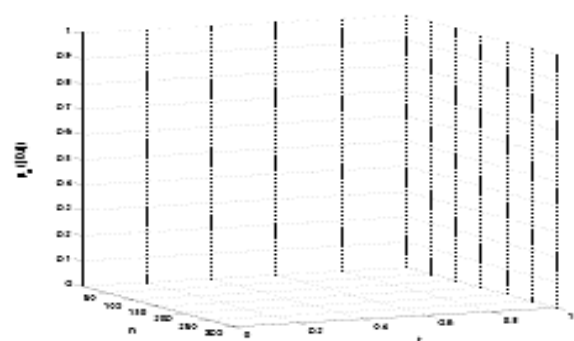


Gráfico 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

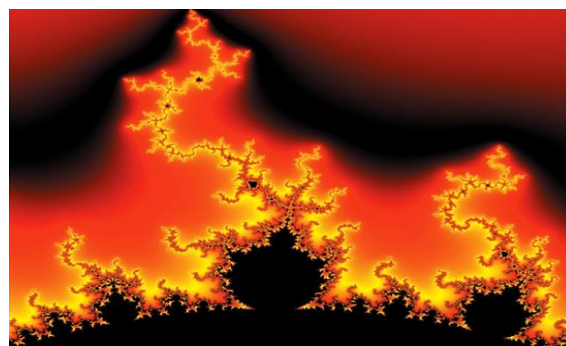


Figura 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

Tabla 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

Cada Artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Título secuencial.

Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

Resultados

Los resultados deberán ser por sección del Artículo.

Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

Referencias

Utilizar sistema APA. No deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del Artículo.

Utilizar Alfabeto Romano, todas las referencias que ha utilizado deben estar en el Alfabeto romano, incluso si usted ha citado un Artículo, libro en cualquiera de los idiomas oficiales de la Organización de las Naciones Unidas (Inglés, Francés, Alemán, Chino, Ruso, Portugués, Italiano, Español, Árabe), debe escribir la referencia en escritura romana y no en cualquiera de los idiomas oficiales.

Ficha Técnica

Cada Artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción.*
2. *Descripción del método.*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda.*
4. *Resultados.*
5. *Agradecimiento.*
6. *Conclusiones.*
7. *Referencias.*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencias

Requerimientos de Propiedad Intelectual para su edición:

-Firma Autógrafa en Color Azul del Formato de Originalidad del Autor y Coautores

-Firma Autógrafa en Color Azul del Formato de Aceptación del Autor y Coautores

Reserva a la Política Editorial

Revista de Ciencias de la Salud se reserva el derecho de hacer los cambios editoriales requeridos para adecuar los Artículos a la Política Editorial del Research Journal. Una vez aceptado el Artículo en su versión final, el Research Journal enviará al autor las pruebas para su revisión. ECORFAN® únicamente aceptará la corrección de erratas y errores u omisiones provenientes del proceso de edición de la revista reservándose en su totalidad los derechos de autor y difusión de contenido. No se aceptarán supresiones, sustituciones o añadidos que alteren la formación del Artículo.

Código de Ética – Buenas Prácticas y Declaratoria de Solución a Conflictos Editoriales

Declaración de Originalidad y carácter inédito del Artículo, de Autoría, sobre la obtención de datos e interpretación de resultados, Agradecimientos, Conflicto de intereses, Cesión de derechos y distribución

La Dirección de ECORFAN-México, S.C reivindica a los Autores de Artículos que su contenido debe ser original, inédito y de contenido Científico, Tecnológico y de Innovación para someterlo a evaluación.

Los Autores firmantes del Artículo deben ser los mismos que han contribuido a su concepción, realización y desarrollo, así como a la obtención de los datos, la interpretación de los resultados, su redacción y revisión. El Autor de correspondencia del Artículo propuesto requisitara el formulario que sigue a continuación.

Título del Artículo:

- El envío de un Artículo a Revista de Ciencias de la Salud emana el compromiso del autor de no someterlo de manera simultánea a la consideración de otras publicaciones seriadas para ello deberá complementar el Formato de Originalidad para su Artículo, salvo que sea rechazado por el Comité de Arbitraje, podrá ser retirado.
- Ninguno de los datos presentados en este Artículo ha sido plagiado ó inventado. Los datos originales se distinguen claramente de los ya publicados. Y se tiene conocimiento del testeo en PLAGSCAN si se detecta un nivel de plagio Positivo no se procederá a arbitrar.
- Se citan las referencias en las que se basa la información contenida en el Artículo, así como las teorías y los datos procedentes de otros Artículos previamente publicados.
- Los autores firman el Formato de Autorización para que su Artículo se difunda por los medios que ECORFAN-México, S.C. en su Holding Bolivia considere pertinentes para divulgación y difusión de su Artículo cediendo sus Derechos de Obra.
- Se ha obtenido el consentimiento de quienes han aportado datos no publicados obtenidos mediante comunicación verbal o escrita, y se identifican adecuadamente dicha comunicación y autoría.
- El Autor y Co-Autores que firman este trabajo han participado en su planificación, diseño y ejecución, así como en la interpretación de los resultados. Asimismo, revisaron críticamente el trabajo, aprobaron su versión final y están de acuerdo con su publicación.
- No se ha omitido ninguna firma responsable del trabajo y se satisfacen los criterios de Autoría Científica.
- Los resultados de este Artículo se han interpretado objetivamente. Cualquier resultado contrario al punto de vista de quienes firman se expone y discute en el Artículo.

Copyright y Acceso

La publicación de este Artículo supone la cesión del copyright a ECORFAN-Mexico, S.C en su Holding Bolivia para su Revista de Ciencias de la Salud, que se reserva el derecho a distribuir en la Web la versión publicada del Artículo y la puesta a disposición del Artículo en este formato supone para sus Autores el cumplimiento de lo establecido en la Ley de Ciencia y Tecnología de los Estados Unidos Mexicanos, en lo relativo a la obligatoriedad de permitir el acceso a los resultados de Investigaciones Científicas.

Título del Artículo:

Nombre y apellidos del Autor de contacto y de los Coautores	Firma
1.	
2.	
3.	
4.	

Principios de Ética y Declaratoria de Solución a Conflictos Editoriales

Responsabilidades del Editor

El Editor se compromete a garantizar la confidencialidad del proceso de evaluación, no podrá revelar a los Árbitros la identidad de los Autores, tampoco podrá revelar la identidad de los Árbitros en ningún momento.

El Editor asume la responsabilidad de informar debidamente al Autor la fase del proceso editorial en que se encuentra el texto enviado, así como de las resoluciones del arbitraje a Doble Ciego.

El Editor debe evaluar los manuscritos y su contenido intelectual sin distinción de raza, género, orientación sexual, creencias religiosas, origen étnico, nacionalidad, o la filosofía política de los Autores.

El Editor y su equipo de edición de los Holdings de ECORFAN® no divulgarán ninguna información sobre Artículos enviado a cualquier persona que no sea el Autor correspondiente.

El Editor debe tomar decisiones justas e imparciales y garantizar un proceso de arbitraje por pares justa.

Responsabilidades del Consejo Editorial

La descripción de los procesos de revisión por pares es dado a conocer por el Consejo Editorial con el fin de que los Autores conozcan cuáles son los criterios de evaluación y estará siempre dispuesto a justificar cualquier controversia en el proceso de evaluación. En caso de Detección de Plagio al Artículo el Comité notifica a los Autores por Violación al Derecho de Autoría Científica, Tecnológica y de Innovación.

Responsabilidades del Comité Arbitral

Los Árbitros se comprometen a notificar sobre cualquier conducta no ética por parte de los Autores y señalar toda la información que pueda ser motivo para rechazar la publicación de los Artículos. Además, deben comprometerse a mantener de manera confidencial la información relacionada con los Artículos que evalúan.

Cualquier manuscrito recibido para su arbitraje debe ser tratado como documento confidencial, no se debe mostrar o discutir con otros expertos, excepto con autorización del Editor.

Los Árbitros se deben conducir de manera objetiva, toda crítica personal al Autor es inapropiada.

Los Árbitros deben expresar sus puntos de vista con claridad y con argumentos válidos que contribuyan al que hacer Científico, Tecnológica y de Innovación del Autor.

Los Árbitros no deben evaluar los manuscritos en los que tienen conflictos de intereses y que se hayan notificado al Editor antes de someter el Artículo a evaluación.

Responsabilidades de los Autores

Los Autores deben garantizar que sus Artículos son producto de su trabajo original y que los datos han sido obtenidos de manera ética.

Los Autores deben garantizar no han sido previamente publicados o que no estén siendo considerados en otra publicación seriada.

Los Autores deben seguir estrictamente las normas para la publicación de Artículos definidas por el Consejo Editorial.

Los Autores deben considerar que el plagio en todas sus formas constituye una conducta no ética editorial y es inaceptable, en consecuencia, cualquier manuscrito que incurra en plagio será eliminado y no considerado para su publicación.

Los Autores deben citar las publicaciones que han sido influyentes en la naturaleza del Artículo presentado a arbitraje.

Servicios de Información

Indización - Bases y Repositorios

RESEARCH GATE (Alemania)

GOOGLE SCHOLAR (Índices de citas-Google)

REDIB (Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico- CSIC)

MENDELEY (Gestor de Referencias bibliográficas)

DULCINEA (Revistas científicas españolas)

UNIVERSIA (Biblioteca Universitaria-Madrid)

SHERPA (Universidad de Nottingham- Inglaterra)

Servicios Editoriales:

Identificación de Citación e Índice H.

Administración del Formato de Originalidad y Autorización.

Testeo de Artículo con PLAGSCAN.

Evaluación de Artículo.

Emisión de Certificado de Arbitraje.

Edición de Artículo.

Maquetación Web.

Indización y Repositorio

Traducción.

Publicación de Obra.

Certificado de Obra.

Facturación por Servicio de Edición.

Política Editorial y Administración

244 - 2 Itzopan Calle. La Florida, Ecatepec Municipio México Estado, 55120 Código postal, MX. Tel: +52 1 55 2024 3918, +52 1 55 6159 2296, +52 1 55 4640 1298; Correo electrónico: contact@ecorfan.org
www.ecorfan.org

ECORFAN®

Editora en Jefe

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

Redactor Principal

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

Asistente Editorial

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC

SORIANO-VELASCO, Jesús. BsC

Director Editorial

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC

Editor Ejecutivo

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

Editores de Producción

ESCAMILLA-BOUCHAN, Imelda. PhD

LUNA-SOTO, Vladimir. PhD

Administración Empresarial

REYES-VILLAO, Angélica. BsC

Control de Producción

RAMOS-ARANCIBIA Alejandra. BsC

DÍAZ-OCAMPO Javier. BsC

Editores Asociados

OLIVES-MALDONADO, Carlos. MsC

MIRANDA-GARCIA, Marta. PhD

CHIATCHOUA, Cesaire. PhD

SUYO-CRUZ, Gabriel. PhD

CENTENO-ROA, Ramona. MsC

ZAPATA-MONTES, Nery Javier. PhD

ALAS-SOLA, Gilberto Américo. PhD

MARTÍNEZ-HERRERA, Erick Obed. MsC

ILUNGA-MBUYAMBA, Elisée. MsC

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

VARGAS-DELGADO, Oscar. PhD

Publicidad y Patrocinio

(ECORFAN®- Mexico- Bolivia- Spain- Ecuador- Cameroon- Colombia- El Salvador- Guatemala- Nicaragua- Peru- Paraguay- Democratic Republic of The Congo- Taiwan),sponsorships@ecorfan.org

Licencias del Sitio

03-2010-032610094200-01-Para material impreso, 03-2010-031613323600-01-Para material electrónico, 03-2010-032610105200-01-Para material fotográfico, 03-2010-032610115700-14-Para Compilación de Datos, 04 -2010-031613323600-01-Para su página Web, 19502-Para la Indización Iberoamericana y del Caribe, 20-281 HB9-Para la Indización en América Latina en Ciencias Sociales y Humanidades, 671-Para la Indización en Revistas Científicas Electrónicas España y América Latina, 7045008-Para su divulgación y edición en el Ministerio de Educación y Cultura-España, 25409-Para su repositorio en la Biblioteca Universitaria-Madrid, 16258-Para su indexación en Dialnet, 20589-Para Indización en el Directorio en los países de Iberoamérica y el Caribe, 15048-Para el registro internacional de Congresos y Coloquios. financingprograms@ecorfan.org

Oficinas de Gestión

244 Itzopan, Ecatepec de Morelos–México.

21 Santa Lucía, CP-5220. Libertadores -Sucre–Bolivia.

38 Matacerquillas, CP-28411. Morazarzal –Madrid-España.

18 Marcial Romero, CP-241550. Avenue, Salinas I - Santa Elena-Ecuador.

1047 La Raza Avenue -Santa Ana, Cusco-Peru.

Boulevard de la Liberté, Immeuble Kassap, CP-5963.Akwa- Douala-Cameroon.

Southwest Avenue, San Sebastian – León-Nicaragua.

6593 Kinshasa 31 – Republique Démocratique du Congo.

San Quentin Avenue, R 1-17 Miralvalle - San Salvador-El Salvador.

16 Kilometro, American Highway, House Terra Alta, D7 Mixco Zona 1-Guatemala.

105 Alberdi Rivarola Captain, CP-2060. Luque City- Paraguay.

Distrito YongHe, Zhongxin, calle 69. Taipei-Taiwán.

Revista de Ciencias de la Salud

“Actividad antimicrobiana del veneno del pez escorpión (*Scorpaena mystes*) de Chamela, Jalisco, México”

SOTO-DE LUNA, Itztli Nefertari Ketzalli, GUTIÉRREZ-VILLEGAS, Cintia, LÓPEZ-CORTÉS, Georgina Ivette, GALVÁN-VILLA, Cristian Moisés, e ISLAS-RODRÍGUEZ, Alfonso Enrique
Universidad De Guadalajara

“Análisis de la citotoxicidad de la *Annona muricata* en células HeLa”

SANCHEZ-RAMOS, Sanjuana, FLORES-VILLAVICENCIO, Lérica Liss, VILLAGOMEZ-CASTRO, Julio César y CARRILLO-LANDELL, Felipe Guadalupe
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Universidad de Guanajuato, campus Guanajuato

“Determinación de microcistinas LR y RR en agua del Lago de Chapala y su potencial efecto a la salud”

PÉREZ-VÁZQUEZ, Miriam E., GARCÍA-VELASCO, Javier, OROZCO-MEDINA, Martha G. y CONTRERAS-RODRÍGUEZ, Sergio H.
Universidad de Guadalajara

“Predicción de pacientes con diabetes a través de un modelo de aprendizaje supervisado de Minería de Datos”

MEDINA-VELOZ, Gricelda, LUNA-ROSAS, Francisco Javier, TAVAREZ-AVENDAÑO, Juan Felipe y MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ma. Del Rocío
Universidad Tecnológica del Norte de Aguascalientes

