

ISSN: 2529-850X



Journal

of Negative & No Positive Results

Incluida en:



Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina

SUMARIO

Editorial

- 1 **¡No hay cosa en los cuartetos que me espante!**
Jesús M. Culebras

Original

- 3 **Relación entre indicadores antropométricos-factores dietéticos en niños de 1 a 3 años adscritos a una estancia infantil en la ciudad de Oaxaca, México.**
Lizbeth Martínez-López, Melizza Regina Castellanos-Ríos, Xenia Andrea Díaz-Vásquez, Isela del Rosario Monge-Cruz, Iván Pérez-Escobar, Diana Matías-Pérez, Iván Antonio García-Montalvo
- 8 **Capacidad antibacteriana de fracciones peptídicas de frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) obtenidas por hidrólisis enzimática.**
Carlos Gasca-Tuz, Luis Chel-Guerrero, David Betancur-Ancona.
- 17 **Inducción de infección en Teosinte (*Zea diploperennis*) con el fitopatógeno *Ustilago maydis*.**
Martha Concepción Pérez Díaz, Marco Antonio Sánchez Medina, María del Socorro Pina Canseco, Eduardo Pérez Campos, Iván Antonio García-Montalvo, Alma Dolores Pérez Santiago
- 23 **Revisión y análisis de la influencia del entorno afectivo y los motivos de práctica de actividad física actual en adolescentes.**
Laura Gómez Escribano, Antonio R. Escribá Fernández-Marcote, Arancha Gálvez Casas, Pedro Tárraga López y Loreto Tárraga Marcos

Caso Clínico

- 29 **Diagnóstico del defecto de Mioadenilato Deaminasa: test de ejercicio en Isquemia, biopsia muscular y secuenciación masiva del exoma.**
Juan José Nava Mateos, Raquel Besse Díaz, Vicente Gómez del Olmo, Olivia Sánchez Sánchez, Diego Ramón Cebrián Novella, María Soledad Añón Roig, Marta Rosas Cancio Suárez

Otros

- 36 **REVISORES (2016)**
- 39 **INFORME SOBRE EL PROCESO INTERNO EN LA REVISTA (2016)**

Journal

of Negative & No Positive Results

Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina

Director

JESÚS M. CULEBRAS

*De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED).
Universidad de León (Spain). Ac. Profesor Titular de Cirugía*
culebras@jonnpr.com

Journal of Negative and No Positive Results es una revista internacional, sometida a revisión por pares y Open Access, *Órgano oficial de la Asociación Para el Progreso de la Biomedicina*, (CIF G24325037) que centra su enfoque en los resultados negativos, neutros o no positivos de las investigaciones en ciencia, salud y farmacia.

Journal of Negative and No Positive Results is an international rapid peer-reviewed journal, open access, *official organ of the Association for the Progress of Biomedicine (CIF G24325037)*, focused in negative, neutral or not positive results from research in science, health and pharma.

NORMAS DE PUBLICACIÓN EN LA REVISTA:

<http://www.jonnpr.com/Normas%20de%20publicacion%20v01%20Mayo%202016.pdf>

GUIDELINES OF PUBLICATION IN THE JOURNAL:

<http://www.jonnpr.com/Guidelines%20of%20publication%20v01%20May%202016.pdf>

Dirección postal

Research and Science S.L.
Artistas 51, 2º 6
28020 Madrid (España)

SopORTE editorial

Luis Vicente Vacas
C/ San Emilio 28, Bajo 1
28017 Madrid (España)

Contacto principal

contacto@jonnpr.com

Contacto de soporte

Responsable editorial
Correo electrónico: luis.vicente@jonnpr.com

Dep. Legal: Exento según R.D. 635/2015

ISSN-L: 2529-850X

Journal

of Negative & No Positive Results

Director

JESÚS M. CULEBRAS

*De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED).
Universidad de León (Spain). Ac. Profesor Titular de Cirugía*
culebras@jonpr.com

Community Manager

ANTONIO CRUZ

*Neurólogo de la Unidad de Ictus Hospital Ramón y Cajal, Madrid
Scientific Advisor Neurologic International*
community@jonpr.com

Comité Editorial

Roxana Bravo

Centro Nacional de Planeamiento Estratégico
(CEPLAN), (Perú).
insgastronomia@gmail.com

Luis Collado Yurrita

Departamento de Medicina, Universidad Complutense
de Madrid (España)
lcollado@ucm.es

Mauricio Di Silvio

Dirección de Educación y Capacitación del Hospital
General de México, (México)
disilviomauricio@gmail.com

Abelardo García de Lorenzo

acCatedrático y Director de la Cátedra de Medicina
Crítica y Metabolismo-UAM. Jefe de Servicio de
Medicina Intensiva. Hospital Universitario La Paz-
Carlos III. Madrid. Instituto de Investigación IdiPAZ
(España)
aqdl@telefonica.net

Javier González Gallego

Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León,
(España)
jgonga@unileon.es

José Antonio Irlés Rocamora

UGC Endocrinología y Nutrición Hospital Ntra Sra de
Valme Sevilla. (España)
josea.irlés.sspa@juntadeandalucia.es

Beatriz Jáuregui Garrido

Hospital Virgen del Rocío (Unidad de Arritmias)
(España)
beatrizjg86@gmail.com

Ignacio Jáuregui Lobera

Departamento de Biología Molecular e Ingeniería
Bioquímica. Área de Nutrición y Bromatología.
Universidad Pablo de Olavide. Sevilla (España)
ijl@tcasevilla.com

Arturo Jiménez Cruz

Facultad de Medicina y Psicología y Universidad
Autónoma de Baja California, (México)
ajimenez@uabc.edu.mx

Francisco Jorquera Plaza

Jefe de Servicio de Aparato Digestivo Complejo
Asistencial Universitario de León (España)
fjorqueraplaza@gmail.com

Emilio Martínez de Vitoria

Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y
Tecnología de los Alimentos "José Mataix" (INYTA).
Universidad de Granada. Armilla Granada. (España)
emiliom@jonpr.com

José Luis Mauriz Gutiérrez

Institute of Biomedicine (IBIOMED). University of León.
León (España)
jlmauriz@unileon.es

Juan José Nava Mateos

Medicina Interna. Hospital Ramón y Cajal de Madrid
(España)
navamateos@gmail.com

Pedro Luis Prieto Hontoria

Universidad SEK. Facultad de Salud y Ciencias de la
Actividad Física. (Chile)
pedro.prieto@usek.cl

Amelia Rodríguez Martín

Catedrática de Salud Pública de la Facultad de
Enfermería y Fisioterapia. Universidad de Cádiz
(España)
amelia.rodriquez@uca.es

Francisco J Sánchez Muniz

Académico de Número de la Real Academia Nacional
de Farmacia. Departamento de Nutrición. Facultad de
Farmacia, Universidad Complutense de Madrid
(España)
frasan@ucm.es

Sergio Santana Porbén

Médico, Especialista de Segundo Grado en
Bioquímica Clínica, Máster en Nutrición en Salud
Pública, Profesor Asistente de Bioquímica, Editor-
Ejecutivo de la RCAN Revista Cubana de Alimentación
y Nutrición. La Habana, Cuba
ssergito@jonpr.com

Javier Sanz Valero

Àrea d'Historia de la Ciència. Dept. Salut Pública,
Història de la Ciència y Ginecologia. Universitat Miguel
Hernández. Sant Joan d'Alacant (España)
jsanz@umh.es

Dan Waitzberg

University of Sao Paulo Medical School (Brasil)
dan.waitzberg@gmail.com

Carmina Wanden-Berghe

Hospital General Universitario de Alicante ISABIAL-
FISABIO
carminaw@telefonica.net

Journal

of Negative & No Positive Results

NORMAS DE PUBLICACIÓN EN LA REVISTA

Política editorial

Journal of Negative and No Positive Results es una revista internacional que centra su enfoque en los resultados negativos, neutros o no positivos de las investigaciones en ciencia, salud y farmacia. La revisión de los artículos se realiza por pares. La filosofía de la revista es Open Access para facilitar el acceso universal a la información publicada.

Los artículos deben enviarse a la revista a través del sistema *online* de gestión. Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas en su última versión (disponible en <http://www.icmje.org>), y ajustarse a las normas aquí presentadas. La falta de consideración de estas instrucciones, además de producir un retraso en el proceso editorial, puede causar el rechazo del trabajo.

Igualmente, la falta de adherencia de los trabajos presentados a las instrucciones recogidas en este documento causará la devolución del trabajo a sus autores para que subsanen las deficiencias encontradas antes de proseguir con el proceso editorial.

Los artículos que se remitan deben ser originales e inéditos y no habrán sido publicados con anterioridad ni estar en evaluación en ninguna otra revista.

Todos los manuscritos se someterán a un proceso estandarizado de revisión anónima «por pares». El comité editorial remitirá a los/as autores/as el informe de los/as revisores/as, que también será anónimo, y al que deberán contestar de acuerdo con las recomendaciones que se les indiquen. Posteriormente se confirmará la aceptación del manuscrito. En todo caso, el comité editorial se reserva el derecho de rechazar los originales que no juzgue apropiados, así como proponer las modificaciones que considere oportunas. Las cartas al director pueden ser aceptadas directamente por el/la directora/a, previo informe del comité editorial. Los/as autores/as que consideren muy importante la rápida publicación de su trabajo deberán indicarlo expresamente en la carta de presentación, justificándolo adecuadamente. A juicio del comité editorial de la revista estos trabajos tendrán un proceso de revisión preferente. Los juicios y opiniones emitidos en los artículos, así como los posibles errores o falsedades, son responsabilidad exclusiva de los/as autores/as.

Todos los artículos aceptados quedan como propiedad de *Journal of Negative and No Positive Results*, y no podrán ser reproducidos en parte o totalmente sin su permiso. Los/as autores/as ceden, en el supuesto de publicación, de forma exclusiva los derechos de edición, reproducción, distribución, traducción y comunicación pública (por cualquier medio o soporte sonoro, audiovisual o electrónico) de su trabajo. El comité editorial de *Journal of Negative and No Positive Results* podrá incluir el artículo en los índices nacionales e internacionales o bases de datos que considere oportuno. Para ello, se adjuntará una carta de cesión de derechos en el momento del envío del trabajo a través del sistema *online* de gestión de manuscritos.

Tipos y extensión de los artículos

Editorial. Puede ser de carácter científico o de carácter profesional referente a aspectos relacionados con los órganos de gestión de la **Journal of Negative and No Positive Results**, con los comités de la revista, o temas actuales. También puede publicarse un editorial previa solicitud de los/las autores/as interesados/as y valoración por el comité editorial (se recomienda consultar previamente con el editor/a jefe de la revista).

Original. Trabajo de investigación cuantitativa o cualitativa relacionado con cualquier aspecto de la investigación en los campos que son objeto de la revista. Este tipo de artículo debe incluir un texto antes de la introducción en el que se explique qué aporta el estudio realizado a la literatura científica, con el fin de ofrecer a los/las lectores/as una visión general del contenido más relevante, (ver procedimiento de envío, segundo documento, aportación a la literatura científica).

Original breve. Trabajo de la misma característica que el original, que por sus condiciones especiales y concreción, puede ser publicado de manera más abreviada.

Revisión. Trabajo de revisión, preferiblemente mediante metodología sistemática, con o sin meta-análisis, sobre temas relevantes y de actualidad en los campos que son objeto de la revista.

Cartas al director. Tendrá cabida en esta sección cualquier comunicación breve que realice:

- Comentarios sobre una publicación previamente aparecida en la revista. Tendrán preferencia y se publicarán de forma más rápida las cartas que hagan referencia a artículos aparecidos en el número anterior.
- Comentarios sobre la línea editorial de la revista, o sobre noticias de actualidad científica, siempre que tengan un claro interés en los campos que son objeto de la revista.

Extensión orientativa de los artículos				
Tipo de artículo	Resumen	Texto	Tablas y figuras	Referencias
Editoriales	---	2.000 palabras	1	10
Originales	Estructurado 250 palabras	3.500 palabras	6	30
Originales breves	Estructurado 150 palabras	2.000 palabras	3	15
Revisión	Estructurado 300 palabras	6.000 palabras	6	150
Cartas al director	---	400 palabras	1	5

NORMAS DE PRESENTACIÓN

Aspectos formales del artículo

Journal of Negative and No Positive Results publica artículos en español y en inglés. Cuando el artículo esté en inglés, antes de su envío a la revista debe ser revisado por una persona angloparlante. Tanto para los artículos en español como en inglés se debe de incluir el resumen y las palabras clave en ambos idiomas en aquellos tipos de artículo que requieran resumen.

El texto debe presentarse en formato Word, con un interlineado de 1,5 en todas sus secciones, márgenes de 2 centímetros y con las páginas numeradas en la parte inferior derecha. Se evitará el uso de abreviaturas en el título y en el resumen del trabajo. La primera vez que aparezca una abreviatura en el texto debe estar precedida por el término completo a que se refiere, excepto en el caso de unidades de medida. Éstas se expresarán preferentemente en Unidades del Sistema Internacional. Las cifras decimales se separan de las unidades mediante una coma y los millares se indican mediante un punto. En los artículos en inglés se deberá seguir la puntuación correspondiente, decimales mediante un punto y millares con una coma).

Recomendaciones para la publicación

Journal of Negative and No Positive Results se adhiere a los «requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas» elaborados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, en su edición más actual, cuyo texto oficial se encuentra disponible en: <http://www.icmje.org/>

Para realización de ensayos clínicos hay que considerar las normas dictadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, disponible en: <http://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/ensayosClinicos.htm>; y figurar en el registro español de estudios clínicos (el código de identificación debe hacerse constar en el artículo de publicación).

Adherencia a recomendaciones éticas

Los estudios enviados, en caso de que se hayan realizado con personas o animales, deberán haber sido evaluados y autorizados previamente por comités de investigación o de ensayos clínicos y confirmar que se adhiere a los principios básicos de la Declaración de Helsinki de la *World Medical Association* (texto disponible en: <http://www.wma.net/es/20activities/10ethics/10helsinki/>).

En especial se deberá informar que los datos de pacientes se han obtenido tras la firma de un consentimiento informado cuando éste sea necesario. Del mismo modo, los autores deberán declarar que se han seguido los protocolos establecidos por sus respectivos centros sanitarios para acceder a los datos de las historias clínicas a los fines de poder realizar este tipo de publicación con finalidad de investigación/divulgación para la comunidad científica. Todas estas condiciones deben figurar clara y detalladamente en el apartado de Métodos.

PROCEDIMIENTO DE ENVÍO

Los artículos deben remitirse por vía electrónica a través de la dirección Web <http://www.jonnpr.com>, donde se encuentra toda la información necesaria para realizar el envío. A través de esta página Web también se podrá realizar un seguimiento del estado del artículo.

Los artículos se introducirán en el sistema en varios archivos:

- Primer documento que incluirá la página del título, carta de presentación, declaración de autoría, financiación, agradecimientos y conflicto de interés.
- Segundo documento con el cuerpo del texto (resumen y palabras clave, *abstract* y *keywords*, introducción, métodos, resultados, discusión, bibliografía, tablas y pies de figura).
- Figuras.

En el sistema de envío online se encontrarán instrucciones más detalladas.

Proceso de revisión: Siempre que se sugiera efectuar modificaciones en los artículos, los autores deberán remitir junto a la nueva versión del artículo una explicación detallada de las modificaciones realizadas, las sugeridas tanto por los informes de los expertos consultados como por el comité editorial de la revista.

Primer documento

Página del título: Contendrá el título del trabajo, los autores y su filiación, el autor responsable del manuscrito y su dirección, y el número de palabras de los resúmenes y del manuscrito.

El título deberá describir adecuadamente el contenido del trabajo y ser lo más conciso posible, en una sola frase (en general, no más de 15 palabras). Se deben evitar los acrónimos, códigos y símbolos que no sean de uso común.

Debe figurar en todos los casos el título en español e inglés.

Los autores indicarán el nombre (sin abreviar) con uno o dos apellidos. Posteriormente y en línea inferior, se indicará el servicio o departamentos a los que pertenecen y la institución correspondiente. No se indicará el grado académico ni la categoría profesional de los/las autores/as. Es importante tener en cuenta los requisitos de autoría grupal. Se recomienda a los autores que definan su «apellido bibliográfico» mediante el uso de un sólo apellido o de los dos apellidos unidos por un guión, para evitar confusiones en las bases de datos bibliográficas. Aquellos autores que envíen el manuscrito con dos apellidos deben tener en cuenta que se publicarán los dos apellidos en la cabecera del artículo y enviará a las bases de datos en las que está indexada la referencia con los dos apellidos, no haciéndose responsable de las posibles confusiones en la citación posterior del autor.

El autor responsable de la correspondencia deberá estar claramente indicado, junto a su dirección profesional o particular completa, incluyendo número de teléfono y correo electrónico. Las direcciones postal y electrónica figurarán en la primera página del artículo si fuera publicado.

Recuento de palabras, indicando por separado el número de palabras del resumen en español y en inglés, y el número de palabras del texto principal (sin incluir la primera página, el resumen/abstract, la bibliografía, las tablas ni las figuras).

Carta de presentación: Debe incluirse un párrafo acerca de cuál es el mensaje principal, su aportación al conocimiento previo, la originalidad y la relevancia del trabajo. La carta de presentación debe indicar:

- El tipo de artículo, sin perjuicio de la decisión final del comité editorial de la revista.

- Que el trabajo no ha sido publicado previamente, ni se encuentra en proceso de revisión en ninguna otra revista.
- Que se han obtenido las adecuadas autorizaciones para la reproducción de material ya publicado (si es el caso) y que se entregarán a la editorial toda vez que el trabajo haya sido aceptado para publicación.
- Indicación y justificación, si procede, de la necesidad de un proceso rápido de publicación por la especial actualidad de la investigación o la rápida obsolescencia de los datos.

Además, debe dejar constancia del cumplimiento de las normas de la revista, y si hubiera trabajos que pudieran ser considerados publicación redundante se deberá explicar en este apartado, así como cualquier otra eventualidad que pueda ser de interés para el/la editor/a jefe de **Journal of Negative and No Positive Results**.

Declaración de autoría: En este apartado se incluirá un párrafo donde se especifique claramente cuál ha sido la contribución de cada uno/una de los autores/as, tanto en el trabajo como en la elaboración del artículo. Los requisitos de uniformidad para la presentación de manuscritos a revistas científicas establecen que las autorías deben basarse en la contribución sustancial, que debe darse simultáneamente a:

- La concepción y el diseño del trabajo, o a la recogida de datos, o al análisis y la interpretación de los datos.
- La escritura del artículo o su revisión crítica con importantes contribuciones intelectuales.
- La aprobación de la versión final para su publicación.

Deben cumplirse todas estas condiciones, ya que la participación exclusiva en la búsqueda y la obtención de fondos, en la recogida de datos o en el análisis estadístico, por ejemplo, no justifica la autoría, ni tampoco la supervisión general del trabajo. El/la autor/a responsable debe asegurar que todas las personas incluidas cumplen realmente los criterios de autoría, y que no se excluye a nadie que también los cumpla.

Financiación: Reconocimiento de las ayudas económicas y materiales que haya podido tener el estudio, e indicar el organismo, la agencia, la institución o la empresa, y el número de proyecto, convenio o contrato. En caso de no contar con financiación externa se hará constar «Sin financiación».

Agradecimientos: Sección donde deben aparecer, si procede, las personas que no reúnen todos los requisitos de autoría, pero que han facilitado la realización del estudio o del artículo. También es un lugar aceptable para citar personas o instituciones que han apoyado el estudio con trabajo o con fondos. Todas las personas mencionadas en la sección de agradecimientos deben conocer y aprobar su inclusión en dicha sección.

Conflicto de interés: Todos los artículos que se envíen deben contener una declaración de los posibles conflictos de intereses de cada una de las personas firmantes. Los conflictos de intereses pueden ser laborales, de investigación, económicos o morales. Los/las autores/as, al enviar el manuscrito, deben indicar por escrito si existe alguno de estos conflictos. El/la editor/ jefe podrá requerir a los/las autores/as que esta declaración de conflictos se amplíe o detalle al máximo cuando lo considere oportuno. De la misma manera, si no hay ningún conflicto de intereses deberán hacerlo constar explícitamente «Sin conflicto de interés». La inclusión de esta información es requisito indispensable en todos los tipos de artículos anteriormente descritos para ser considerados por parte del comité editorial.

Segundo documento (cuerpo del artículo)

Resumen: En consonancia a las normas de **Journal of Negative and No Positive Results**, algunos trabajos deben contener un resumen (ver apartado sobre tipos y extensión de los artículos). Cuando se requiera un resumen estructurado, sus apartados serán: objetivo, método, resultados, conclusiones. El resumen se debe caracterizar por: 1) poder actuar como sustituto del texto si no se

dispusiera de él; 2) estar desarrollado en términos concretos, mencionando los puntos esenciales del artículo; 3) no incluir citas bibliográficas, materiales o datos no mencionados en el texto; 4) no deberán utilizarse abreviaturas. En los casos en que se debe incluir resumen se debe de hacer en los dos idiomas, español e inglés, en primer lugar irá el correspondiente al idioma del artículo.

Palabras clave: Debajo del resumen se incluirán de tres a diez palabras clave que identificarán el contenido del trabajo para su inclusión en índices y bases de datos. Salvo imposibilidad, deberán coincidir con los términos del *Medical Subject Headings* (MeSH) propuestos por la *U.S. National Library of Medicine*, disponibles en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. En los casos en que se debe incluir palabras clave se debe de hacer en los dos idiomas, español e inglés, en cada caso debajo del resumen en el idioma correspondiente.

Aportación a la literatura científica: En los artículos originales se incluirá un breve texto en el que se explique lo que aporta el estudio, con el fin de ofrecer a los/las lectores/as una visión general del contenido más relevante. En este texto no debe copiarse literalmente el contenido del resumen. No contendrá abreviaturas. Es recomendable incluir la siguiente información:

- Describir en un párrafo de 200 caracteres como máximo qué aporta el estudio realizado al conocimiento ya existente.
- Añadir un segundo párrafo (también de 200 caracteres como máximo) en el que se planteen las implicaciones de los resultados obtenidos, para la práctica, y la investigación en general.

Introducción: Será lo más breve posible, tratando de justificar la necesidad del trabajo que se presenta. Conviene centrar el problema con datos actuales. Deberá citarse solamente la bibliografía indispensable, según criterios de actualidad y relevancia en relación con los fines del estudio. No se incluirán datos o conclusiones del trabajo que se publica. El último párrafo de la introducción describirá el objetivo (o los objetivos) del trabajo.

Métodos: Se indicará el ámbito donde se ha realizado la investigación, el período o duración, las características de la serie estudiada, el criterio de selección empleado y las técnicas utilizadas, describiendo con precisión cómo se llevó a cabo el estudio, tipo de diseño utilizado, criterios de inclusión y exclusión, análisis estadístico, etc., y proporcionando los detalles suficientes para que la experiencia pueda repetirse sobre la base de la información aportada. En el caso de las revisiones es muy recomendable describir la búsqueda bibliográfica realizada, los criterios de inclusión y exclusión de los trabajos, el método de evaluación de la calidad de las evidencias encontradas y las técnicas de valoración del resultado que se considera.

Resultados: Describen los hallazgos obtenidos con los materiales y métodos referidos, detallándose tanto los hallazgos positivos como los negativos. Los datos pueden mencionarse en el texto o en forma de tablas o figuras. No deben repetirse en el texto los datos de las tablas o figuras. Se resaltarán o resumirán sólo las observaciones importantes, en línea con el objetivo del estudio.

Discusión: Debe interpretar los resultados, resaltando los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se derivan. Debe relacionar las observaciones que se describen con otros estudios pertinentes. Los autores pueden exponer sus propias opiniones sobre el tema. Se debe discutir: el significado y la aplicación práctica de los resultados; las consideraciones sobre una posible inconsistencia de la metodología y las razones por las cuales pueden ser válidos los resultados; la relación con publicaciones similares y comparación en las áreas de acuerdo y desacuerdo, y las indicaciones y directrices para futuras investigaciones. Por otra parte, debe evitarse que la discusión se convierta en una revisión del tema y que se repitan los conceptos que hayan aparecido en la introducción. Tampoco deben repetirse los resultados del trabajo. Se evitarán las afirmaciones gratuitas y las afirmaciones no apoyadas en los datos.

Tablas: Se presentarán en hojas aparte que incluirán:

- Numeración de la tabla con números arábigos, que se citará en el texto en orden correlativo.
- Título de la tabla en la parte superior y abreviaturas o siglas en la parte inferior.
- Una sola tabla por hoja.

- Cada columna debe llevar un encabezamiento. El contenido deberá ser autoexplicativo y los datos que se incluyan no deben repetirse ni en el texto ni en otras tablas o figuras. La revista admitirá tablas que ocupen hasta un máximo de una página. Por tanto, en el caso de tablas muy extensas, se dividirán en varias partes, indicando en cada una de ellas que se trata de una continuación.
- Cuando se haya efectuado un estudio estadístico, se indicará a pie de tabla la técnica empleada y el nivel de significación, si no se hubiera incluido en el texto de la tabla.

Figuras: Incluirán todo tipo de material no tabular (morfología, algoritmos, histogramas, gráficas, etc.) y se citarán en el texto en orden correlativo. Se remitirán con resolución suficiente y alta calidad, con una flecha indicando la parte superior si no contienen texto. Las leyendas o pies de figuras se escribirán en hoja aparte dentro del archivo del artículo, tras las tablas, indicando el número que les corresponde en caracteres arábigos. En el caso de fotografías de pacientes, estarán realizadas de forma que éstos no sean identificables.

Bibliografía: La bibliografía se presentará según el orden de aparición en el texto, con la correspondiente numeración correlativa en caracteres arábigos. En los casos en que la cita se coloque junto a un signo de puntuación, la cita precederá al signo. En el texto, los números irán en formato superíndice y entre paréntesis. La bibliografía se remitirá como texto estándar, nunca como notas al pie o notas finales. No se aceptarán los códigos específicos de los programas de gestión bibliográfica. Aunque en las bases de datos no aparezcan tildes, las citas de revistas en castellano sí las llevarán.

Se citarán sólo aquellos trabajos que tengan relación con alguna sección del manuscrito, siendo responsabilidad de los autores la adecuada revisión bibliográfica del conocimiento previo en el tema de su investigación. Los revisores considerarán especialmente que toda la bibliografía relevante ha sido valorada.

Las comunicaciones personales y los datos no publicados no se citarán, sino que se hará referencia a ellos en el texto. Los originales aceptados, pero aún no publicados, pueden incluirse en las citas bibliográficas, especificando el nombre de la revista, seguido por «aceptado para su publicación y la fecha de aceptación». En caso de artículos publicados previamente en formato electrónica debe indicarse la fecha de esa publicación.

El formato y estilo de citación debe seguir rigurosamente los «requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas», disponible en: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Las abreviaturas de las revistas se ajustarán a las de la *US National Library of Medicine*, página Web de consulta: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>, cuando se trate de una revista no incluida en esta base de datos se pondrá el nombre completo de la revista, sin abreviar.

A continuación se indican los formatos de cita según el tipo de documento que vaya a ser citado:

1. *Artículo original o revisión:*
Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. año;volumen(número):página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)
2. *Artículo original o revisión en suplemento:*
Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. año;volumen(suplemento):página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)
3. *Artículos pendientes de publicación:*
Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista. (pendiente de publicación aceptado "fecha de aceptación")
4. *Libros y monografías:*
Autor/es. Título. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.
5. *Capítulo de libro:*

Autor/es. Título del capítulo. En: Director/es o Coordinador/es del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.

6. *Informe científico o técnico:*

Autor/es. Título del informe. Lugar de publicación: organismo, agencia editora o patrocinadora; año.

7. *Tesis doctoral:*

Autor. Título. Edición. Lugar de publicación: editorial; año.

8. *Documentos legales:*

Título del documento legal. Nombre de la publicación, número, (fecha de publicación).

9. *Material electrónico:*

Artículo original o revisión de revista digital:

Autor/es. Título. Abreviatura internacional de la revista [revista en Internet]. Año [fecha de consulta]; volumen(número): página inicial-página final (sin repetir las decenas, centenas, etc.)*. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

*En caso de no tener paginado se indica el número aproximado de pantallas

Monografía en Internet:

Autor/es. Título [monografía en Internet]. Edición. Lugar de publicación: editorial; año [fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Página Web:

Autor/es. Título de la página [página Web]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación [Fecha de actualización; Fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Base de datos en Internet:

Institución/autor. Título [Base de datos en Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación [Fecha de actualización; Fecha de consulta]. Disponible en: URL (no poner punto final para evitar errores al copiar la URL)

Journal

of Negative & No Positive Results

GUIDELINES OF PUBLICATION IN THE JOURNAL

Editorial policy

Journal of Negative and No Positive Results is an international open-access peer-reviewed journal, focused in negative, neutral or not positive results from research in science, health and pharma.

Articles should be submitted through the online management system. Manuscripts should be prepared according to the latest version of the International Committee of Medical Journal Editors' recommendations (available at <http://www.icmje.org>), and comply with the guidelines outlined therein. Failure to observe these requirements and instructions will inevitably result in a delay in the editorial process and could even result in rejection of the manuscript.

Furthermore, any works submitted that do not follow these guidelines will be sent back to their respective authors, so that they can amend any issues detected, before the editorial process can go on.

Submitted articles must be original and unpublished, and should not be under review in any other journal.

All manuscripts will be subjected to a standard anonymous peer review process. The editorial board shall send every author the reviewer's anonymous report, and they should respond in accordance with the recommendations received. Only then the manuscript will be approved. The editorial board reserves the right to reject any original work that they consider to be unsuitable and to propose any necessary amendments. The letters to the editor may be approved directly by the editor, upon report from the editorial board. Authors who consider an urgent publication of their work to be very important should specify this in their covering letter, including an appropriate justification. Based on the editorial board's judgment, these works shall undergo a priority review process. The statements and opinions expressed in the articles, including possible errors or falseness, are the sole responsibility of their author/s.

Approved articles become the property of *Journal of Negative and No Positive Results*, and they should not be partly or fully reproduced without their permission. Once their work is published, authors sign over exclusive rights to *Journal of Negative and No Positive Results* for the publication, reproduction, distribution, translation and public communication (in any media or format – audio, video, electronic files, etc.) of their work. Authors also grant *Journal of Negative and No Positive Results's* editorial board the right to include their article in national and international indexes or databases. A letter signing over rights to *Journal of Negative and No Positive Results* shall therefore be issued and sent, together with the original work via the online manuscripts management system.

Types of articles and length

Editorial. It may have a scientific or a professional focus based on topics related to the journal's scope, or even on current issues. An editorial may also be published on the author's/s' request and assessed by the editorial board (we recommend prior consultation with the journal's editor/director).

Original. Quantitative or qualitative research related to any aspect of investigation in the fields object of the journal. This type of article should include a brief text before the Introduction explaining the contribution of the study to scientific literature, so that a general outlook of the most relevant content can be offered to the readers (see delivery procedure, second document, contribution to scientific literature).

Original brief. Same features as Original publications but, published in a more concise way.

Review. Review work, preferably systematic, with or without meta-analysis, on relevant and up-to-date issues in the field object of the journal.

Letter to the Director. This section shall include any brief communication commenting on:

- Comments on an article previously published in the journal. Priority will be given to letters making reference to articles that have appeared in the previous edition of the journal and will therefore be published first.
- Comments on the editorial line of the journal, also comments related to current scientific issues, as long as they convey a clear interest in the fields object of the journal.

Recommended manuscript length				
<u>Type of article</u>	<u>Abstract</u>	<u>Text</u>	<u>Tables and figures</u>	<u>References</u>
Editorial	---	2.000 words	1	10
Original	250 structured words	3.500 words	6	30
Original brief	150 structured words	2.000 words	3	15
Review	300 structured words	6.000 words	6	150
Letter to the Editor	---	400 words	1	5

Presentation of manuscripts

Formal aspects of the article

Journal of Negative and No Positive Results publishes articles in Spanish and English. When submitted in English, the article must be previously reviewed by an English native speaker and it should always include abstract and keywords both in Spanish and English if required by type of article.

Text files should be sent in Word format, keeping an interline spacing of 1.5 in all sections, 2 centimeters margins and page numbering in the lower-right hand corner of the page. Abbreviations should be avoided in the title and abstract of the work. The first time an abbreviation appears in the text it must be preceded by the complete term it refers to, except in the case of metric units, which will be expressed in the International System of Units. Decimal figures should be separated from units using a comma and thousands should be indicated using a full stop (for articles in English). Articles in English should follow the corresponding punctuation marks (using a full stop for units and a comma for thousands).

Recommendations for publishing

Journal of Negative and No Positive Results adheres to the International Committee of Medical Journal Editors' latest version of Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (official version available at: <http://www.icmje.org/>).

When reporting clinical trials, the guidelines by the Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, should be followed (available at: <http://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/ensayosClinicos.htm>); the author/s must be registered under the Spanish registry of clinical studies (the identification code must be stated in the article to be published).

Adherence to ethical recommendations

Before any studies are sent in and whenever humans or animals are involved in the tests, previous evaluation and authorization from research or clinical trials committees must be obtained as well as confirmation of adherence to the basic principles of the *World Medical Association's* Helsinki Declaration (text available at: <http://www.wma.net/es/20activities/10ethics/10helsinki/>).

More specifically, it should be stated that patient's data were collected after signing an informed consent form whenever necessary. Furthermore, authors must state that they followed all the established protocols, from their respective health centres, to gain access to the clinical histories data in order to carry out this type of research/dissemination aimed at the scientific community. Each and every one of these conditions should be clearly detailed in the Methods section.

Submission procedure

Articles must be submitted online via the Website <http://www.jonnpr.com>, where all the information regarding the submission of works can be found. It is also possible to follow and track the status of submitted works through this Website.

Articles should be uploaded onto the system in several files:

- The first document should include the title page, a covering letter, an authorship statement, funding, acknowledgments and conflicts of interest.
- The second document should include the main body of text (abstract and key words, introduction, methods, results, discussion, references, tables and figures captions).
- Figures.

Detailed instructions can be found in the online submission system.

Review process: After reviews are received, authors should return, together with the revised version, a detailed explanation of all edits and changes incorporated (following recommendations by the experts' reports and those from the journal's editorial board).

First document

Title page: It should include the manuscript title, authors' information and their affiliations, the name and address of the corresponding author, the abstract word count and manuscript word count.

The title provides an accurate and concise description of the article, in one single sentence (generally no more than 15 words). Acronyms, codes and symbols which are not of common use should be avoided.

Title into English and Spanish must be included.

Authors will state their name (unabbreviated) followed by one (or two) surnames. The authors' institutional address should be specified on the next line. Authors' academic degrees/categories are not to be included. Group authorship requirement must be taken into account. We recommends authors define their "bibliographic name" with a single surname (two surnames linked by a hyphen where necessary), in order to prevent any possible confusion in the bibliographic references databases. Authors who include two surnames when sending the manuscript should be aware that both surnames will be published the heading of the article; the reference with the two surnames will be sent to the databases where it is indexed, and the journal shall bear no responsibility for possible confusions with subsequent references to the author.

The title page should list the corresponding author's name, complete address, phone number and e-mail. If approved, the postal address and e-mail will be shown on the first page of the article.

Word counts should be indicated specifying the number of words in the abstract in Spanish and English, and the total word count of the main text (first page, abstract, references, tables and figures excluded).

Cover letter: It should include a short paragraph presenting the main message of the article, its contribution to previous knowledge, its originality and relevance. The cover letter must state:

- The type of article, notwithstanding the final decision of the journal's editorial board.
- That the work has not been previously published, and it is not being reviewed by any other journal.
- That the appropriate permission to reproduce material that has already been published (if it is the case) has been obtained and that those permissions will be submitted to the journal once the work is accepted for publication.

- Indication and justification, when necessary, for the need to process the publication quickly due to the special relevance of the emerging data or because the data may rapidly become obsolete.

A statement indicating compliance with the journal's guidelines must also be included. This section should include declarations regarding any possible works that could be considered redundant, as well as any other occurrence that could be of relevance to the Editor in chief of ***Journal of Negative and No Positive Results***.

Statement of authorship: This section should include a paragraph that clearly specifies the contributions from each one of the authors, both the research work and preparation of the manuscript. The standard requirements for submitting manuscripts to scientific journals establish that authorships must be based on a substantial contribution, simultaneously granted to:

- The conception and design of the work, data collection or analysis, and interpretation.
- The writing of the article or its critical review through important intellectual contributions.
- The approval of the final version for publication.

All of these conditions must be fulfilled, as the exclusive participation in certain limited tasks such as the search for and collection of funds, the collection of data, or the statistical analysis, does not justify the authorship, neither does the general supervision of the work. The responsible author in charge must guarantee that all participants included fulfill the authorship criteria and that no one fulfilling the criteria is excluded.

Funding: Financial and material support to the study must be acknowledged, indicating the supporting body, agency, institution or company, as well as the project, agreement or contract number. In the event that no external funding is received, "No financial support was received for this study" should be stated.

Acknowledgements: This section may include the names of those individuals who are not eligible for authorship, but who have contributed to the study or to the article. Individuals or institutions having supported the study through their work or funding may equally be mentioned here. Individuals mentioned in the acknowledgements section must be informed and give their approval before being included in this section.

Conflicts of interest: All articles submitted must be accompanied by a declaration of any possible conflicts of interest from each one of the signatories. Conflicts of interest may be derived from work, research, financial relationship or moral issues. When submitting their manuscript, authors must indicate in writing the existence of any of these conflicts. The Editor in chief may require authors, affected by the conflict of interest, to extend upon or go into further detail whenever appropriate. It should also be explicitly stated in the article when there are no conflicts of interest by stating "No conflict of interest". The inclusion of this information is a *condicio sine qua non* for all of the types of articles previously described to be considered by the editorial board.

Second document (main body of the article)

Abstract: According to ***Journal of Negative and No Positive Results's*** guidelines some works must have an abstract (see section on types and length of articles). When a structured abstract is required, it should include the following sections: objective, method, results, conclusions. The abstract should 1) work as a substitute for the text when the latter is not available; 2) be developed in concise terms, with reference to the main ideas of the article; 3) not include references, materials or data which are not mentioned in the main text; 4) not use abbreviations. Abstracts should be written in both, Spanish and English, presenting first the one that corresponds to the main language of the article.

Key words: Three to ten key words are to be included at the end of the Abstract; these words will serve to identify the content of the work for its inclusion in indexes and databases. Unless it is not feasible, the key words should match the indications from the *Medical Subject Headings* (MeSH)

proposed by the *U.S. National Library of Medicine*, which are available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. Key words should be written in both, Spanish and English, presenting first the one that corresponds to the main language of the article.

Contribution to scientific literature: Original articles should include a brief text explaining the contribution of the study, so that readers can have a general view of the most relevant contents. The content of the abstract must not be copied here. Abbreviations should not be included. It is advisable to include the following information:

- Description (200 characters maximum) detailing the contribution of the study to existing knowledge.
- A second paragraph (200 characters maximum) will explore the implications of the findings for future research.

Introduction: It must be as brief as possible, trying to justify the need for the presented work. The subject should be focused on current data. Only essential references should be included, mainly current topics, according to their relevance in relation to the aims of the study. It should not include data or conclusions from the published work. The last paragraph of the introduction will explain the work's objective/s.

Methods: This section should state the field of research, the period or duration, the characteristics of the series studied, the selection criteria and the techniques applied, with a precise description of how the study was carried out, the study design, inclusion and exclusion criteria, treatment guidelines, statistical analysis, etc., and it must include sufficient details for the repetition of the study based on the given information. In the case of reviews, we strongly recommend describing the references search, the inclusion and exclusion criteria, the method of quality assessment for the evidence found and the techniques used to assess the results.

Results: Description of the findings obtained with the materials and methods referred, detailing both positive and negative outcomes. Data can be mentioned in the text, or as tables and figures. The text must not include repeated data from the tables or figures. Only important observations will be highlighted or summarized, always in line with the study objective.

Discussion: Interpretation of the results, highlighting new and important aspects of the study and the conclusions derived from them. This section must establish the association of the observations described with other relevant studies. Authors may give their own opinions on the subject. This section should also include a discussion on the meaning and practical application of the results; the considerations of a possible inconsistency in the methodology and the reasons justifying the validity of the results; the association with similar publications and a comparison of the agreement and disagreement areas, together with indications and guidelines for future research. The discussion however should not become a review of the subject, with a repetition of concepts already presented in the introduction. A repetition of the study results should also be avoided. Also to be avoided are speculative statements and those without a solid basis on data.

Tables: Tables must be presented in separate pages including:

- Table numbering with Arabic numbers, corresponding to the numbering cited in the text.
- Heading at the top of the table and abbreviations or acronyms at the bottom.
- Just one table per page.
- Each column should have a heading. The content should be self-explanatory and included data should not be repeated in the text or in other tables or figures. The journal will admit tables occupying a maximum extension of one page. Therefore, in the case of very large tables, these will be divided in several parts, indicating it is a continuation for each of those parts.
- When including a statistical study, the table will show a footnote indicating the technique used and the level of significance, if it is not included in the text of the table itself.

Figures: Figures should include all kind of non-tabular material (morphology, algorithms, histograms, graphics, etc.) and should be cited consecutively in the text. Figures should be of an adequate resolution and high quality, with an arrow indicating the upper most section when they lack text. The legends or figures captions should be written on a separate page in the article file, after the tables, indicating their respective number in Arabic numerals. When pictures of patients are included, they should be shown in such a manner that the subjects cannot be identified.

References: References will be presented following the order of appearance in the text, tables or figures, with the corresponding correlative numbering in Arabic characters. When a reference citation is placed by a punctuation mark, the citation will precede the mark. In the text, numerals will keep a superscript format. References will be written as standard text, not as foot notes or final notes. Specific codes of programs for the processing of literature and references will not be accepted. Citations of journals in Spanish will maintain diacritical marks even if these are not kept as such in databases.

Only works with some relation to a specific section of the manuscript will be cited, and the authors will be responsible for an adequate bibliographic review of the existing knowledge within the subject of investigation. Reviewers will specifically check that every relevant reference has been taken into account.

Personal communications and unpublished data shall not be cited, but instead they will be referred to in the text. Original works accepted, but not published yet, may be included in the bibliographic references, with specification of the name of the journal, followed by the mention “accepted for publication” and the date of acceptance. In the case of articles previously published in digital media, the date of publication shall be indicated.

When citing, format and style “uniform requirements for manuscripts sent to biomedical journals” must be followed strictly, available at: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

The journals’ abbreviations should follow those listed in the *US National Library of Medicine*, available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>. When the journal is not included in database, the complete name of the journal should be written with no abbreviations.

The following reference formats are listed according to the type of document to be cited:

1. *Original article or review:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. Year;volume(number): first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.).
2. *Original article or review in supplements:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. Year;volume(supplement): first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.).
3. *Articles awaiting publication:*
Author/s. Title. International abbreviation of the journal. (*awaiting publication* accepted “approval date”)
4. *Books and monographies:*
Author/s. Title. Edition. Place of publication: editorial; year.
5. *Chapter of a book:*
Author/s. Title of the chapter. In: Editor/s of the book. Title of the book. Edition. Place of publication: editorial; year.
6. *Scientific or technical report:*
Author/s. Title of the report. Place of publication: institution, publishing or sponsoring agency; year.
7. *Doctoral thesis:*
Author. Title. Edition. Place of publication: editorial; year.
8. *Legal documents:*
Title of the legal document. Name, number, (publication date) of the publication.

9. *Digital material:*

Original article or review of the digital journal:

Author/s. Title. International abbreviation of the journal [Internet journal]. Year [consultation date];volume(number):first page-last page (with no repetition of tens, hundreds, etc.)*. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

*When no numbering is available, there should be an indication of the approximate number of screens

Monography on the internet:

Author/s. Title [Internet monograph]. Edition. Place of publication: editorial; year [date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Web page:

Author/s. Page title [Web page]. Place of publication: Editor; Date of creation [Date of update; Date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Internet database:

Institution/author. Title [Internet database]. Place of publication: Editor; Date of creation [Date of update; Date of consultation]. Available at: URL (to avoid any possible mistakes do not place a full stop at the end of the URL address)

Journal

of Negative & No Positive Results

Sumario

Volumen 2. Número 1.
Enero 2011

Editorial

- 1 **¡No hay cosa en los cuartetos que me espante!**
Jesús M. Culebras

Original

- 3 **Relación entre indicadores antropométricos-factores dietéticos en niños de 1 a 3 años adscritos a una estancia infantil en la ciudad de Oaxaca, México.**
Lizbeth Martínez-López, Melizza Regina Castellanos-Ríos, Xenia Andrea Díaz-Vásquez, Isela del Rosario Monge-Cruz, Iván Pérez-Escobar, Diana Matías-Pérez, Iván Antonio García-Montalvo
- 8 **Capacidad antibacteriana de fracciones peptídicas de frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) obtenidas por hidrólisis enzimática.**
Carlos Gasca-Tuz, Luis Chel-Guerrero, David Betancur-Ancona.
- 17 **Inducción de infección en Teosinte (*Zea diploperennis*) con el fitopatógeno *Ustilago maydis*.**
Martha Concepción Pérez Díaz, Marco Antonio Sánchez Medina, María del Socorro Pina Canseco, Eduardo Pérez Campos, Iván Antonio García-Montalvo, Alma Dolores Pérez Santiago
- 23 **Revisión y análisis de la influencia del entorno afectivo y los motivos de práctica de actividad física actual en adolescentes.**
Laura Gómez Escribano, Antonio R. Escribá Fernández-Marcote, Arancha Gálvez Casas, Pedro Tárraga López y Loreto Tárraga Marcos

Caso Clínico

- 29 **Diagnóstico del defecto de Mioadenilato Deaminasa: test de ejercicio en Isquemia, biopsia muscular y secuenciación masiva del exoma.**
Juan José Nava Mateos, Raquel Besse Díaz, Vicente Gómez del Olmo, Olívia Sánchez Sánchez, Diego Ramón Cebrián Novella, María Soledad Añón Roig, Marta Rosas Cancio Suárez

Otros

- 36 **REVISORES (2016)**
- 39 **INFORME SOBRE EL PROCESO INTERNO EN LA REVISTA (2016)**

Journal

of Negative & No Positive Results

Content

Volume 2. Issue 1.
January 2017

Editorial

- 1 **There's nothing in the quatrains I shall fear!**
Jesús M. Culebras

Original

- 3 **Relationship between dietary indicators anthropometric-factors in children from 1 to 3 years attached to a child stay in the city of Oaxaca, Mexico.**
Lizbeth Martínez-López, Melizza Regina Castellanos-Ríos, Xenia Andrea Díaz-Vásquez, Isela del Rosario Monge-Cruz, Iván Pérez-Escobar, Diana Matías-Pérez, Iván Antonio García-Montalvo
- 8 **Antibacterial capacity of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis.**
Carlos Gasca-Tuz, Luis Chel-Guerrero, David Betancur-Ancona.
- 17 **Induction of infection in Teosinte (*Zea diploperennis*) through the phytopathogen *Ustilago maydis*.**
Martha Concepción Pérez Díaz, Marco Antonio Sánchez Medina, María del Socorro Pina Canseco, Eduardo Pérez Campos, Iván Antonio García-Montalvo, Alma Dolores Pérez Santiago
- 23 **Review and analysis of the influence of the emotional environment and reasons for current physical activity in adolescents.**
Laura Gómez Escribano, Antonio R. Escribá Fernández-Marcote, Arancha Gálvez Casas, Pedro Tárraga López y Loreto Tárraga Marcos

Clinical Case

- 29 **Mioadenilate Deaminase defect diagnosis: Ischemic exercise test, muscular biopsy and hole exome sequency.**
Juan José Nava Mateos, Raquel Besse Díaz, Vicente Gómez del Olmo, Olivia Sánchez Sánchez, Diego Ramón Cebrián Novella, María Soledad Añón Roig, Marta Rosas Cancio Suárez

Others

- 36 **PEER REVIEWERS (2016)**
- 39 **REPORT ON INTERNAL EDITORIAL PROCESS OF THE JOURNAL (2016)**

Journal

of Negative & No Positive Results



Editorial

Artículo español

¡No hay cosa en los cuartetos que me espante!

There's nothing in the quatrains I shall fear!

Jesús M. Culebras

De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León. Director de Journal of Negative & No Positive Results. España

Cuando me propusieron dirigir la revista *Journal of Negative & No Positive Results* (JONNPR) rechacé la oferta pensando que encontraría muchos aspectos negativos (¡qué gran comienzo para una revista con este título!). Sabía de primera mano, por mis casi cuatro décadas al frente de NUTRICIÓN HOSPITALARIA¹, que los comienzos editoriales son siempre muy difíciles y se comportan como una pescadilla que se muerde la cola: si una revista no está indizada en bases de datos no le remiten artículos y al no recibir artículos no se consigue indizar. Temía que fuéramos a encontrar muchas dificultades para localizar artículos. Siendo la temática "resultados negativos o no positivos" no podríamos tener clientes asiduos como ocurre en revistas específicamente dedicadas a temas concretos. Por mi edad no quería embarcarme en una empresa cuyos objetivos se plantearían a varios años vista, por el riesgo de tener que apartarme en cualquier momento y dejar en la estacada a los colaboradores. También recordé la máxima de que "segundas partes nunca fueron buenas". Si había logrado algunos objetivos notables con NUTRICIÓN HOSPITALARIA ¿Por qué ponerme a prueba con un nuevo proyecto?

Todas estas consideraciones condicionaron mi negativa *a priori*. Luego, analizando uno por uno los puntos que yo aducía, fueron cayendo hasta que decidí aceptar. La edad era un dato objetivo, pero mentalmente me considero joven, dispuesto siempre a ilusionarme con nuevos proyectos. Además, como nadie es imprescindible, si en un momento tuviera que abandonar, otros se harán cargo sin problemas. En el caso de clientes, cierto es que no se puede en una revista de resultados negativos buscar colaboradores científicos asiduos pero lo que sí es posible es, teniendo acceso como tenemos a miles de científicos, intentar seducirlos para vehiculizar lo que en argot científico se denominan cajonazos². La indización en bases de datos no debía considerarse un problema sino una batería de objetivos a batir. Algunas bases de datos incorporan revistas a su acervo de manera espontánea; en cambio en otras la admisión es precedida por condiciones que hay que cumplir, cuyo objetivo es garantizar o al menos sentar bases que hagan suponer que la revista alcanzará estabilidad y una continuidad. Pensar que segundas partes no son buenas y que debía quedarme con el éxito cosechado en NUTRICIÓN HOSPITALARIA era una postura egoísta por mi parte. Si hay un nuevo proyecto, ¿por qué no embarcarme en él?

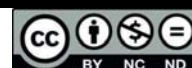
En mayo 2016 acepté el reto: empezamos a juntar miembros para el comité editorial, escribimos a más de once mil científicos que figuraban en nuestras bases de datos de todo el mundo e hicimos una campaña a base de editoriales intentando convencer sobre las bondades de publicar lo negativo^{3,4,5,6,7}.

A menos de un año del inicio estamos gratamente sorprendidos por los logros. En el informe sobre el proceso editorial que aparece en este número de enero⁸, como es preceptivo cada año, puede apreciarse que no estamos faltos de artículos. El primer volumen de JONNPR aparece con 46 originales a lo largo de 300 páginas. Completamos cada número mensual con cinco artículos originales. El proceso de revisión por pares es muy diligente, con un índice de rechazos de 17,86% y la publicación, una vez aceptados los artículos, es casi instantánea. Todo el proceso, desde recepción hasta publicación, si los autores responden a vuelta de correo con las correcciones sugeridas, puede transcurrir en menos de diez días. La visualización a través de la web la garantizan *Google metrics*, *Dialnet* y *ROAD*. Gozamos de predicamento en Latino América de donde procede uno de cada cuatro artículos. El bilingüismo es una tendencia que va calando. Supone un esfuerzo adicional pero sin duda, aumenta la visibilidad y penetración de los artículos.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: culebras@jonnpr.com (Jesús M. Culebras).

Recibido el 7 de octubre de 2016; aceptado el 16 de octubre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

En definitiva, la respuesta a nuestro llamamiento ha sido fructífera y estimulante. Hemos recibido muchos e-mails de apoyo muy gratificantes por lo que dicen y por quien lo dice. Me vienen a la memoria dos versos de la segunda estrofa del Soneto de Repente de Lope de Vega^(*) que puedo aplicar a mi sentir en mayo 2016 (“Yo pensé que no hallara consonante”) y lo que percibo ahora (“no hay cosa en los cuartetos que me espante”)

Estamos satisfechos de lo conseguido y no negamos que también sorprendidos, pero no vamos a parar aquí, visto lo visto. Seguiremos trabajando para posicionar JONNPR en las grandes bases de datos internacionales, en la consecución de sello de excelencia por parte de organismos oficiales, en el reconocimiento de toda la sociedad científica y, sobre todo, en poder prestar un buen servicio a la comunidad de investigadores a nivel internacional.

(*) Un soneto me manda hacer Violante
que en mi vida me he visto en tanto aprieto;
catorce versos dicen que es soneto;
burla burlando van los tres delante.

Yo pensé que no hallara consonante,
y estoy a la mitad de otro cuarteto;
mas si me veo en el primer terceto,
no hay cosa en los cuartetos que me espante.

Por el primer terceto voy entrando,
y parece que entré con pie derecho,
pues fin con este verso le voy dando.

Ya estoy en el segundo, y aun sospecho
que voy los trece versos acabando;
contad si son catorce, y está hecho.

Referencias

1. Culebras JM. Treinta y seis años, siete meses y seis días; una vida laboral dedicada a la revista NUTRICIÓN HOSPITALARIA. *Nutr Hosp* 2015; 32(6):2357-2359. DOI:10.3305/nh.2015.32.6.10023
2. Moreno Rojas R. La resurrección de los cajonazos. *JONNPR*. 2016;1(7):237-238. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.7.1076
3. Culebras JM. Resultados negativos, cincuenta por ciento del conocimiento. *JONNPR*. 2016;1(1):1-2. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.1.926
4. Tárraga López PJ, Rodríguez Montes JA. ¿Se deben publicar los resultados negativos o no positivos? *JONNPR*. 2016; 1(2):43-44. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.2.928
5. Luján R. Negative results: the unwanted but much-needed side of research. *JONNPR*. 2016; 1(3):81-3. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.3.1009
6. Culebras JM. Dos malas noticias. *JONNPR*. 2016; 1(4):123-124. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.4.1017
7. Jáuregui-Lobera I. La publicación no excluyente de resultados de investigación. *JONNPR*. 2016; 1(5):159-162. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.5.1022
8. Internal editorial process of *JONNPR* (2016). DOI: 10.19230/jonnpr.1197



Original

Artículo español

Relación entre indicadores antropométricos-factores dietéticos en niños de 1 a 3 años adscritos a una estancia infantil en la ciudad de Oaxaca, México.

Relationship between dietary indicators anthropometric-factors in children from 1 to 3 years attached to a child stay in the city of Oaxaca, Mexico.

Lizbeth Martínez-López¹, Melizza Regina Castellanos-Ríos¹, Xenia Andrea Díaz-Vásquez¹, Isela del Rosario Monge-Cruz¹, Iván Pérez-Escobar¹, Diana Matías-Pérez², Iván Antonio García-Montalvo^{1,2}

¹Escuela de Nutrición, URSE, Oaxaca, Oaxaca Escuela de Nutrición, URSE, Oaxaca, México.

²Unidad de Bioquímica e Inmunología ITO, Oaxaca, Oaxaca, México.

Resumen

Introducción: Tanto padres como madres de familia desarrollan una vida laboral intensa. Con ello buscan un lugar donde puedan cuidar a sus hijos de manera segura durante el tiempo en que ellos acudan a su jornada laboral. Debido a la cantidad de horas que pasan los niños en estas instituciones, uno de los servicios que ofrecen es el de alimentación, el cual otorga al menos una comida caliente y dos colaciones, representando más del 50% de los alimentos que consumen al día.

Objetivo: El objetivo fue el de evaluar la relación entre los indicadores antropométricos y los factores dietéticos en niños de 1 a 3 años adscritos a una estancia infantil privada en Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Métodos: Para realizar esta evaluación se tomaron el peso y la talla. El diagnóstico nutricional fue de acuerdo a los percentiles de la OMS, mientras que para conocer los factores dietéticos se aplicó una encuesta nutricional y un recordatorio de 24 horas.

Resultados: El 61% de los niños presentaron normopeso y el 39% presentó malnutrición (desnutrición, sobrepeso u obesidad). A través de una minuta se analizaron los tres tiempos de comida proporcionados por la estancia infantil obteniendo un promedio energético de 637.2 kcal, 55% hidratos de carbono, 31% lípidos y 14% proteínas. Se encontró que existe relación entre ambas variables (indicadores antropométricos y factores dietéticos; OR=4.9).

Conclusión: Los tiempos de comida proporcionados por la estancia infantil son inadecuados en cuanto a energía y macronutrientes para los niños de 1 a 3 años de edad.

Palabras clave

Estancia infantil; Indicadores antropométricos; factores dietéticos; malnutrición.

Abstract

Introduction: Parents and mothers develop an intense working life. They seek a place where they can care for their children safely during the time they go to their working hours. Due to the number of hours children spend in these institutions, one of the services offered is food, which provides at least one hot meal and two snacks, representing more than 50% of the food consumed daily.

Objective: The objective was to evaluate the relationship between anthropometric indicators and dietary factors in children 1 to 3 years attached to a private daycare center in Oaxaca City, Oaxaca, Mexico.

Methods: For this evaluation weight and height were registered. Nutritional diagnosis was according to WHO percentiles, while dietary factors to meet a nutritional survey and 24-hour recall was applied.

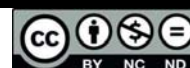
Results: 61% of children had normal weight and 39% presented malnutrition (malnutrition, overweight or obesity). Through a survey the three meals provided by the daycare center were analyzed obtaining an energy average of 637.2 kcal, 55% carbohydrates, 31% lipids and 14% protein. It was found that there is a relationship between the two variables (anthropometric and dietary factors; OR = 4.9).

Conclusion: The times of food provided by the daycare center are inadequate in terms of energy and macronutrients for children 1 to 3 years old.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: snipermontalvo@gmail.com (Iván Antonio García Montalvo).

Recibido el 20 de octubre de 2016; aceptado el 1 de noviembre de 2016.



KEYWORDS

Kids Stay; anthropometric indicators; dietary factors; malnutrition.

Introducción:

Debido a que hoy en día, las mujeres tienen más acceso a un empleo formal han recurrido a otras prácticas que les ayuden a crecer en el campo laboral así como al cuidado de sus hijos. Principalmente los menores a cuatro años muchas veces tienen que asistir a casas de cuidado o estancias infantiles, en México las zonas que hacen mayor uso de éstos servicios se encuentran en las zonas urbanas; así mismo, las mujeres más pobres no necesariamente son las que hacen mayor uso de éste servicio. Representan uno de los agentes económicos más fuertes desde hace unos diez años. Este tipo de servicios tiene un impacto muy grande en los pequeños y se ha demostrado que los niños de 3 a 6 años de edad que participan en ellos tienen un buen desarrollo ya que se reduce el aislamiento e incrementan las relaciones sociales adecuadas^(1, 2). Las estancias infantiles que apoyan a madres trabajadoras, es un Programa en el cual se ayuda a las madres que trabajan, buscan empleo o estudian y a los padres solos con hijas(os) o niñas(os) bajo su cuidado de entre 1 y hasta 3 años 11 meses de edad (un día antes de cumplir los 4 años) y entre 1 y hasta 5 años 11 meses de edad (un día antes de cumplir los 6 años). En caso de niñas(os) con alguna discapacidad, a través de subsidios que les permitan acceder a los servicios de cuidado y atención infantil⁽³⁾. Para que este servicio de estancias infantiles lo puedan proveer es necesario que exista un interés por parte del responsable del niño y que el ingreso monetario que tienen en base a sus trabajos no rebase la línea de bienestar, que equivale al valor total de la canasta alimentaria y de la canasta no alimentaria por persona al mes.

La población susceptible de ser beneficiaria del Programa se divide en dos grupos: potencial y objetivo; la población potencial se define como el grupo de madres de 14 años y más, con hijos de entre 1 y 4 años, sin acceso a seguridad social de forma directa o por parentesco con el jefe del hogar, en hogares con ingreso estimado *per cápita* por debajo de la línea de bienestar, que se estima en 3.266, 866 personas para el tercer trimestre de 2014. Por su parte, la población objetivo se refiere a las madres, padres solos, tutores y principales cuidadores que no tienen empleo, buscan un empleo o tienen un empleo que no les brinda seguridad social⁽⁴⁾. Los beneficios que trae la utilización del servicio de estancias infantiles, ya que al ser niños pequeños que no sobrepasan los cuatro años son más susceptibles a las interacciones con el medio que los rodea, formando así nuevas redes neuronales que ayudaran en su crecimiento y la adaptación a su entorno, por lo tanto las estancias infantiles tendrán que tener el material suficiente para lograrlo. Las personas que estén a cargo deben saber los cuidados que esta población debe llevar, incluso si alguno de éstos niños necesita algún cuidado en especial o algún problema de salud⁽⁵⁻¹⁵⁾. En los últimos años, los casos de sobrepeso y obesidad, así como de desnutrición han tenido un incremento acelerado, particularmente en la población infantil, México ocupa uno de los primeros lugares en obesidad infantil. Las causas de sobrepeso, obesidad y desnutrición son muchas, como por ejemplo la ingesta calórica de veces o más al día, el sedentarismo, entre otros⁽¹⁶⁾. Los padres o las personas que cuidan de los niños determinan en los primeros años de vida predisponiendo algún tipo de este problema en algún futuro, aunado a ausencia de la lactancia, baja calidad de alimentos y la preferencia de ciertos alimentos en los primeros dos años de vida. La adiposidad infantil o IMC incrementado, de 2 semanas de edad a los 24 meses están relacionados con un incremento significativo en el riesgo de sobrepeso durante la edad preescolar, los niños que son obesos a los nueve o veinticuatro meses, tienen tres veces más probabilidad de mantener este sobrepeso a la edad de cuatro años, en comparación con niños no obesos durante los dos primeros años de vida⁽¹⁵⁾. En base a lo anterior, se tiene como objetivo evaluar la relación que existe entre los indicadores antropométricos y los factores dietéticos en niños con un rango de edad de 1 a 3 años adscritos a una estancia infantil privada en Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Materiales y métodos:

La población objetivo fueron niños de 1 a 3 años de edad adscritos a la estancia infantil, cuyos padres aprobaron su participación en el estudio a través de la carta de consentimiento informado. Para las medidas antropométricas, se empleó una báscula de piso marca seca (modelo 813), y un estadiómetro marca seca (modelo 213). Para identificar los hábitos de alimentación de los niños, se empleará el recordatorio de 24 horas, interrogando a los padres de familia o tutores encargados de los niños, y se anotará la información en un formato realizado por los autores, además se utilizará la frecuencia de alimentos, para obtener información del consumo actual de los niños. Se realizará un análisis de los menús brindados en la estancia infantil, para saber la cantidad de energía, macronutrientes que aporta a los niños y si cumple la ingesta diaria recomendada (IDR) por la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2008, para ese rango de edad, para ello se empleará el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes, a través de la realización de una minuta. El análisis estadístico se realizará a través del programa estadístico OpenEpi y de Excel® 2010, esto con la finalidad de relacionar los datos obtenidos.

Resultados:

La población objetivo fue de 38 sujetos de estudio (n=38), de los cuales el 53% fueron del sexo femenino y 47% masculino, con una edad promedio de 2 años 1 mes. Se obtuvo el peso y la talla de los sujetos estudiados; después, a través de las gráficas de percentiles de la OMS para peso para la edad, peso para la longitud y peso para la talla se diagnosticó si se encontraban en peso normal, bajo peso o sobrepeso, obteniéndose que un 61% obtuvo un peso normal, 31% bajo peso, 5% sobrepeso y 3% obesidad (ver figura 1). Con lo que respecta a la parte de alimentación se

realizó una encuesta sobre datos de alimentación a los padres de familia que aceptaron participar en el estudio, que incluía preguntas sobre la duración de la lactancia materna y cambios en la alimentación y apetito de los niños. El 64% de niños fueron alimentados exclusivamente por leche materna durante 6 meses y en el 36% no (figura 2). En cuanto a apetito, se preguntó si era bueno, malo o regular, el 74 % consideran que sus hijos tienen un apetito bueno y el 26 % señaló que el apetito es regular. Utilizando el sistema mexicano de alimentos equivalentes (SMAE) se calculó la cantidad de energía, proteínas, lípidos e hidratos de carbono de cada recordatorio de 24 horas de los niños de la estancia. Se sumaron los resultados de cada niño, y se calculó un promedio para estimar la composición de su dieta diaria, compuesta por 938,8 kcal. Tomando como referencia la ingesta diaria recomendada de energía y macronutrientes de la OMS para las diferentes edades, y utilizando un porcentaje de adecuación, se pudo observar que el 80% de los niños no cubre con ella. Además se evaluó la composición de los menús otorgados por la estancia infantil, a través de una minuta con la cantidad de ingredientes ocupados por el personal de cocina, para determinar si eran adecuados en cuanto a cantidad de energía y macronutrientes para cada tiempo de comida. El desayuno estuvo compuesto por 315 kcal, de las cuales un 17% fueron proteínas, 64% hidratos de carbono y un 19% grasas. En cuanto a la colación 1, estuvo compuesta por solo 24 kcal, de las cuales un 91 % fueron hidratos de carbono, un 8% proteínas y un 1% lípidos. Para los tres rangos de edad este tiempo de comida fue deficiente. La comida constó de 297,5 kcal, de las cuales un 61 % fueron hidratos de carbono, 12,2 % proteínas y un 19 % lípidos. Se elaboró un formato de frecuencia de alimentos para saber qué tipo de hidratos de carbono y grasas consumen con regularidad. 86% de los niños consumen hidratos de carbono simples en forma de cereales de caja, pastas, leches, gelatinas y dulces. En cuanto a grasas el 40 % consume grasas saturadas, seguido de 34 % grasas polinsaturadas y por último un 26 % consume grasas monoinsaturadas. Empleando una tabla de 2 x 2 en razón de momios para valorar el riesgo expuesto ($p=0.05$), se encontró que existe 4,9 veces más riesgo ($OR= 4,9$) de llegar a un estado de sobrepeso o bien de obesidad si se mantiene dicho consumo frecuente ya que no cubre la IDR que establece la OMS.

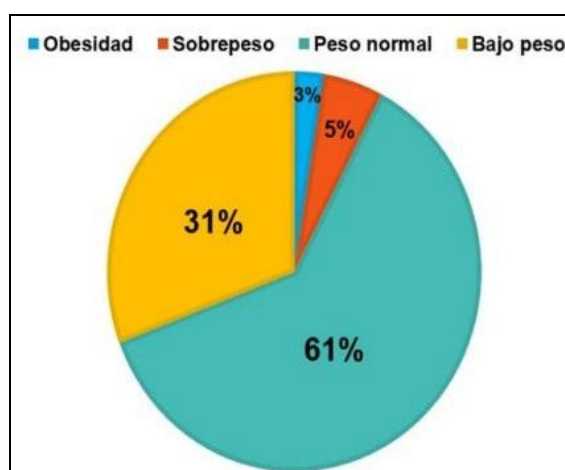


Figura 1. Diagnóstico nutricional de los sujetos de estudio.

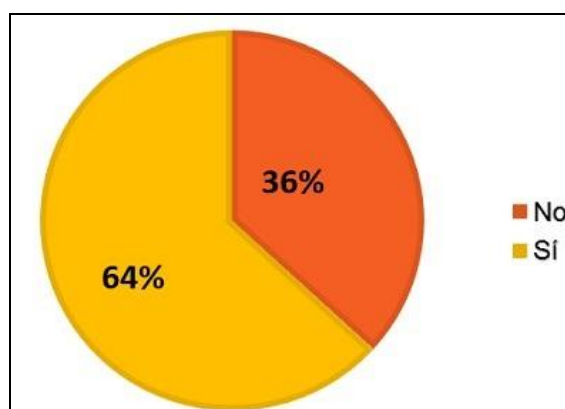


Figura 2. Lactancia Materna Exclusiva.

Discusión:

En base a los resultados obtenidos existe diferencia con lo obtenido por Álvarez Villaseñor y George Flores en el año 2014, en un estudio realizado con 368 niños y niñas con edades entre dos y 47 meses, que acudían de manera regular a 15 guarderías del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) distribuidos en Baja California Sur, de los cuales 48 % fueron niños y 52 % niñas. Detectaron que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en su conjunto fue de 17,3 %, 5 % de los niños presentó bajo peso y 77,4 %, peso normal. Llegaron a la conclusión de que uno de los factores que incidió en los indicadores antropométricos era la tipología familiar, ya que la obesidad fue más frecuente en niños con familias monoparentales. Otros, como la influencia cultural y social, los hábitos de alimentación y el estilo de

vida. Consideran además que se debe medir la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en todas las estancias del país, así como fomentar la educación alimentaria dentro y fuera de casa, dado que esta etapa de la vida es crítica para el crecimiento de los niños, así como para el riesgo de padecer obesidad en etapas posteriores⁽¹⁷⁾. Al realizarse la encuesta sobre hábitos alimentarios el 64% de los niños fue alimentado exclusivamente con leche materna durante 6 meses y el 36% restante no, factor que se considera importante debido a los beneficios que la lactancia otorga y su implicación en el crecimiento, como se vio reflejado en un estudio hecho por Moran Rodríguez y colaboradores en el año 2005, en la zona básica de salud de San Andrés del Rabanedo, España cuya población de estudio fueron los niños nacidos en la zona de salud, entre el 1 de enero del 2000 y el 31 de diciembre del 2005. A través de un muestreo aleatorio, encontraron que la evolución de la ganancia de peso en promedio era diferente según el tipo y la duración de la lactancia. Los niños cuya alimentación fue exclusiva durante 6 meses obtuvieron una mejor ganancia de peso y longitud que los que la realizaron durante un periodo de 3 meses o menos encontrando que el 71% de los niños que empezaron la lactancia materna la abandonaron antes de cumplir 3 meses y solo el 29% lo siguió, por lo que llegaron a la conclusión de que la lactancia materna exclusiva conlleva una evolución del peso del niño más adecuada, así como una menor morbilidad al menos en el primer año de vida del lactante. Lo que refuerza la necesidad de desarrollar actividades y programas específicos en nuestra área destinados a la promoción de la lactancia materna⁽¹⁸⁾.

En diciembre del 2006, fue realizado un estudio similar por Moreira Sampaio y colaboradores, el cual tuvo como objetivo evaluar la calidad de la dieta a través del uso del Índice de Alimentación Saludable (IAS) de 35 niños de 2-3 años de una guardería infantil en Río de Janeiro, Brasil. Con una frecuencia de 6 meses, se implementó el método de pesaje de los alimentos brindados en la guardería y la complementación de la alimentación en casa, tanto de los días que asistían a la guardería así como los fines de semana. Se obtuvieron como resultados que la puntuación media de las IAS de los niños después de seis meses en la guardería demostró una buena dieta (IAS = 88,8) y al final de la implementación de buenos métodos la calidad de la dieta mejoró al igual que el consumo de frutas y verduras, y la variedad de alimentos. El estudio demostró que la calidad de la dieta de la población necesita mejoras, con la implementación de todos los grupos de alimentos y la variedad se reducirían las enfermedades crónicas degenerativas así como la malnutrición en niños de 2-3 años de edad. Concluyeron, que los hábitos alimentarios saludables no se siguen para los fines de semana en casa, lo que hace imprescindible la ejecución de la educación nutricional con las familias para que puedan producirse de manera efectiva los cambios en la conducta alimentaria de los niños. Una guardería tiene que ser un lugar de introducción de actividades de educación nutricional para los padres y para los responsables a fin de que puedan mejorar las dietas en casa, para que sus hijos tengan un crecimiento adecuado, evitando así las enfermedades crónicas en la vida adulta⁽¹⁹⁾.

Otro de los factores, que influyen en el estado nutricional de los niños preescolares son las actividades que realizan sus madres o padres los cuales inciden directamente en la calidad de alimentos que ellos consumen día con día, ya que en base al estudio realizado por Álvarez en 2015 acerca de las actividades que realizan las madres de los niños adscritos a las guarderías del IMSS en los estados de Monterrey y Guadalajara, México se encontró que incide el hecho de que las madres tengan pocos ingresos monetarios. Por lo tanto el acceso a los alimentos es limitado y esto hace que exista una mala elección de lo que consumen día con día, comprando más aquellos que son de bajo costo pero que su aporte nutricional es deficiente y más para grupos de edad preescolar. Se destacó como factores de riesgo en relación con la nutrición infantil en los niños adscritos al programa de Guarderías IMSS los siguientes: predominio de mamás trabajadoras en el núcleo familiar, la mayoría de las madres son empleadas, las madres tuvieron como promedio la escolaridad hasta preparatoria o técnica, el gasto en alimentación en sus hogares de casi la mitad de sus ingresos⁽²⁰⁾; en comparación con el presente estudio se encuentra una similitud en que existen factores nutricionales y que a la vez pueden ser sociales los cuales van a afectar la alimentación de los niños.

Los nutriólogos, tienen los conocimientos necesarios para poder diseñar menús de acuerdo a los requerimientos diarios recomendados para los niños y niñas. Tomando en cuenta diversos aspectos, como la edad y el sexo, también vigilan que sean preparados de manera higiénica, asegurando su inocuidad, así como identificar a tiempo algún déficit nutricional en los niños, previniendo algún grado de malnutrición que pudiera afectar su crecimiento y desarrollo. Es por esto que deben estar a cargo de este servicio, por lo que los directores de estas instituciones deberían considerar lo anterior al momento de elegir el personal, pues la mayoría de las veces contratan a cocineras o personal con nulos conocimientos de nutrición, quienes preparan los menús sin tomar en cuenta lo mencionado anteriormente, ocasionando que se brinden comidas deficientes o excesivas en cuando a energía y macronutrientes.

Conclusiones:

Como conclusión, se encontró que existe una relación entre los indicadores antropométricos y los factores dietéticos. A consecuencia de ello se pudo determinar que los tiempos de comida brindados por esta institución no son adecuados para los niños de acuerdo a su rango de edad. Sin embargo faltan más estudios enfocados a la misma temática donde se aborden otras instituciones privadas provenientes de diversos puntos de la ciudad, además del comparativo con las instituciones públicas sobre el mismo rubro, para así visualizar la situación del estado nutricional de estos niños y tomar las medidas de salud públicas correspondientes. Son pocas las instituciones de este tipo en las que un nutriólogo está a cargo de la elaboración de los menús que se brindan a los niños, ya que desconocen que uno de los campos laborales de estos es el servicio de alimentación. Las funciones que cumple un nutriólogo en este ámbito es organizar, dirigir, controlar y supervisar las actividades del servicio de alimentación, bajo las normas oficiales correspondientes además de la capacitación al personal designado para esta labor.

Agradecimientos:

Los autores agradecen a la estancia infantil "Albert Bandura" por el apoyo y las facilidades brindadas para realizar este trabajo.

Referencias

1. Caridad AM, López-Boo, F. Los servicios de cuidado infantil en América Latina y el Caribe. *El trimestre económico*, 2015; LXXXII (326): 249-75.
2. Fernandez E, Atwood N. Child protection and out of home care: Policy, practice, and research connections Australia and New Zealand. *Psychosocial Intervention*, 2013; 22 (3): 175-84.
3. Robles BMR, Juan LM. Reglas de Operación del Programa de Estancias Infantiles para Apoyar a Madres Trabajadoras, para el ejercicio fiscal 2015. *Diario Oficial México*, 2014; 3: 3-172.
4. Mörk E, Sjögren A, Svaleryd H. Cheaper child care, more children. Document de treball de l'IEB 2009/2, 2009; 2: 24-37.
5. Secretaria De Desarrollo Social. Reglas de Operación del Programa de Estancias Infantiles para apoyar a madres trabajadoras, México, 2015: 1-172.
6. Secretaria de Desarrollo Social. Matriz de indicadores para resultados del programa de estancias infantiles para apoyar a madres solteras, México, 2015; 1-7.
7. Da Cunha TD, Botelho RBA, De Brito RR, Pineli OLL, Stedefeldt E. Métodos para aplicar las pruebas de aceptación para la alimentación escolar: validación de la tarjeta lúdica. *Rev Chil Nutr*, 2013; 40 (4): 357-63.
8. Albino da Silva S, Fraccolli L A. Evaluating child care in the Family Health Strategy. *Rev Bras Enferm*, 2016; 69 (1): 3 47-53.
9. Nascimento VG, Da Silvall CJP, Bertolilli C, Abreul LC, Valenti EV, Leone C, Prevalence of overweight preschool children in public day care centers: a cross-sectional study. *Sao Paulo Med J*, 2012; 130 (4): 225-9.
10. Cárcamo RA, Van der Veer R, Vermeer JH, van Ijzendoorn MH. From founding homes to day care: a historical review of childcare in Chile. *Cad Saúde Publica*, 2014; 30 (3): 461-72.
11. Pinho AM. The children's permanence in educational child care. 2nd International Conference on Education and New Learning Technologies, 2010; 2: 3323-31.
12. Del Valle JF. Out of home care in child protection: An international overview. *Psychosocial Intervention*, 2013; 22: 161-2.
13. Del Valle JF, Bravo A. Current trends, figures and challenges in out of home child care: An international comparative analysis. *Psychosocial Intervention*, 2013; 22: 251-7.
14. Macorra A, Niño M. Why is México a country of overweight or obese children? *Medisur*, 2011; 9(3): 20-4.
15. Vázquez G, Ávila A, Contreras R, Romero V, Cuellar E. Factores de riesgo en lactantes que son atendidos en Guarderías. *Bol Med Hosp Infant*, 2007; 64: 15-21.
16. Núñez-Rocha GM, Meléndez-Buitrón MA, Salinas-Martínez AM, De la Garza-Casas YE, Garza-Elizondo ME, Villarreal-Ríos E. Guarderías infantiles, un espacio para la vigilancia alimentaria y nutricional. *Rev Inves Clin*, 2012; 62:154-162.
17. Saavedra JM, M. Dattilo A. Factores alimentarios y dietéticos asociados a la obesidad infantil: recomendaciones para su prevención antes de los dos años de vida. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 2012; 29 (3): 379-85.
18. Álvarez V, Flores G. Sobrepeso y obesidad en niños de guarderías. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 2014; 52 (6); 606-09.
19. Morán RM, Naveiro JC, Blanco E, Rodríguez FM. Prevalencia y duración de la lactancia materna. Influencia sobre el peso y la morbilidad. *Nutr Hosp*, 2009; 24 (2); 213- 17.
20. Moreira SR, Henriques P. Análisis de la calidad de los menús del Programa de Alimentación Escolar Nacional en una ciudad de Río de Janeiro-Brasil. *Rev Chil Nutr*. 2015; 42 (3); 235-40.
21. Álvarez N. Factores de riesgo maternos relacionados con el estado nutricional en niños de guarderías en México. *Rev CEES Salud Publica*, 2015; 6: 84-8.



Original

Artículo español

Capacidad antibacteriana de fracciones peptídicas de frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) obtenidas por hidrólisis enzimática.

Antibacterial capacity of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis.

Carlos Gasca-Tuz, Luis Chel-Guerrero, David Betancur-Ancona.

Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. México.

Resumen

Objetivo. Evaluar la capacidad antibacteriana de fracciones peptídicas de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) obtenidas por hidrólisis enzimática.

Métodos. Se procesaron granos de *Phaseolus lunatus* para obtener concentrados proteínicos, los cuales fueron sometidos a hidrólisis enzimática con las enzimas pepsina, Flavourzyme^{MR} y el sistema secuencial pepsina-pancreatina. A los hidrolizados obtenidos se les evaluó el grado de hidrólisis y los que presentaron un valor menor a 10% se les evaluó la capacidad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*.

Resultados. Los grados de hidrólisis más bajos que se obtuvieron fueron: 8.48, 9.58 y 7.40% para los sistemas enzimáticos pepsina, Flavourzyme^{MR} y el sistema secuencial pepsina-pancreatina, respectivamente. Las fracciones peptídicas no presentaron una capacidad antibacteriana observable en forma de inhibición del crecimiento de las cepas.

Conclusión. Los hidrolizados proteínicos de *Phaseolus lunatus*, no presentaron capacidad antibacteriana contra las cepas estudiadas.

Palabras clave

Frijol lima; *Phaseolus lunatus*; hidrólisis enzimática; capacidad antibacteriana.

Abstract

Aim. The aim was to evaluate the antibacterial capacity from lima bean peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis.

Methods. *Phaseolus lunatus* beans were processed for obtain protein concentrates, which were subjected to enzymatic hydrolysis with pepsin, Flavourzyme and pepsin-pancreatin sequential system. The antibacterial ability against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* was evaluated for protein hydrolysates with a value less than 10% of degree of hydrolysis

Results. The lower degrees of hydrolysis obtained were: 8.48, 9.58 and 7.40%, for pepsin, Flavourzyme and pepsin-pancreatin sequential system enzyme, respectively. Peptide fractions showed no observable antibacterial ability as growth inhibition of the strains.

Conclusion. *Phaseolus lunatus* protein hydrolysates showed no antibacterial capacity against the strains studied.

Keywords

Lima bean; *Phaseolus lunatus*; enzymatic hydrolysis; antibacterial capacity.

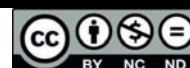
Aportación a la literatura científica:

Las actividades económicas globales de producción y consumo en los últimos años se han incrementado. Esto ha propiciado nuevas tendencias hacia el crecimiento económico sustentable tomando como base el uso de los recursos renovables. El uso de materias primas derivadas principalmente de plantas es una alternativa para su utilización como materiales multifuncionales. La especie *Phaseolus lunatus* L., también conocida como frijol Lima tiene semillas comestibles y ricas en proteínas y almidón. Sus proteínas han sido hidrolizadas para obtener fracciones o péptidos con actividad biológica. Los péptidos bioactivos son fragmentos de proteínas específicas que impactan positivamente en las funciones o condiciones del organismo y por ende podrían influenciar en la salud humana. Se han comprobado actividades antihipertensivas, antioxidantes, antitrombóticas y anticariogénicas *in vitro* del hidrolizado enzimático de frijol

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: bancona@correo.uady.mx (David Abram Betancur-Ancona).

Recibido el 29 de septiembre de 2016; aceptado el 7 de octubre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

lima. Un grupo de péptidos activos comprende aquellos que tienen actividad antimicrobiana. Mezclas de fracciones péptídicas, poseen actividad antibacteriana contra los microorganismos como *S. flexneri*. Sin embargo, las fracciones peptídicas de *Phaseolus lunatus* no presentaron actividad contra *Escherichia coli*, *Salmonella tiphimurium* y *Staphylococcus aureus*.

Introducción:

Desde tiempos ancestrales las bacterias han causado diversas enfermedades en el ser humano las cuales se pueden clasificar en: infecciones cuando son provocadas por la acción directa de la bacteria o intoxicaciones cuando la enfermedad se debe a componentes producidos por la misma. En el área de la salud, las enfermedades alimentarias son muy comunes, por lo cual se empezó a implementar el uso de sustancias con la capacidad de inhibir o controlar el crecimiento de microorganismos. Estas sustancias son utilizadas como aditivos en los alimentos procesados o en los empaques de los mismos, para evitar infecciones o intoxicaciones microbianas¹. El uso irracional de estos compuestos ha generado un gran problema debido a la aparición de cepas resistentes a agentes antimicrobianos, así como a la aparición de toxicidad por su empleo en altas concentraciones o también por alterar la estructura química de los alimentos². Una alternativa a estos inconvenientes podría ser la utilización de fracciones peptídicas o péptidos bioactivos que representan una forma amplia de defensa natural contra diversos microorganismos conocidos³.

Los péptidos bioactivos son fragmentos de proteínas específicos que impactan positivamente en las funciones o condiciones del cuerpo humano y por último podrían influenciar en la salud. Un grupo de péptidos bioactivos comprende aquellos que tienen actividad antimicrobiana. Algunas aplicaciones novedosas e importantes se han desarrollado en la agricultura, como conservantes en alimentos y en medicina⁴.

Los péptidos antibacterianos son moléculas catiónicas que están presentes en plantas, insectos, animales e inclusive peces. Generalmente estos péptidos contienen entre 15 y 200 aminoácidos y su peso molecular usualmente es menor a 10 kDa. También estos péptidos exhiben cierta selectividad sobre las bacterias Gram negativas, esto debido a los componentes que forman parte de la membrana celular de este grupo de bacterias⁵. Algunas familias de péptidos antimicrobianos se han identificado en plantas y en general presentan un tamaño que va de 2 a 9 kDa. Todos los péptidos antimicrobianos provenientes de plantas son globulares, compactos y ricos en el aminoácido cisteína. Sin embargo, las tioninas fueron los primeros péptidos aislados de plantas en ser descritos. Subsecuentemente, la actividad antimicrobiana ha sido identificada en varias defensinas, proteínas de transferencia lipídica, péptidos de heveína y knottin, incluyendo MBP-1 del maíz, IbAMP de semillas de flores de alegría (*Impatiens sultanii*), snakin de papas, y seferdinas de las raíces de la planta bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*). Otra de las funciones de los péptidos antimicrobianos en la piel humana es la de proteger contra un extenso número de patógenos. Los péptidos antimicrobianos producidos por la piel del epitelio proveen un campo amplio contra los microbios patógenos⁶.

La especie *Phaseolus lunatus* L., pertenece a la familia Fabaceae, la cual es una de las más grandes entre las dicotiledóneas, con 643 géneros y reúne 18.000 especies distribuidas en todo el mundo, éstas se concentran en las regiones tropicales y subtropicales. La especie *Phaseolus lunatus* L., también conocida como habas o frijoles de lima, se cultiva en América del Norte, América del Sur, Europa, África oriental y occidental y el sudeste de Asia. Las semillas son comestibles y ricas en proteínas (240 g kg⁻¹) y almidón (630 g kg⁻¹)⁷.

La actividad biológica de los péptidos obtenidos de la hidrólisis del concentrado proteico de esta especie han sido estudiados. Por ejemplo, se ha comprobado la actividad antitrombótica *in vitro* en un porcentaje del 100 % en una concentración de 6.15 mg/mL del hidrolizado con pepsina. Así mismo, se reportó la actividad anticariogénica al funcionalizar el mismo hidrolizado con pirofosfato y logrando reducir la disociación del calcio en un 77.3% y del fósforo en un 76.9 %⁸. De manera similar, las mezclas de polipéptidos y péptidos de bajo peso molecular, han sido asociados a la capacidad antioxidante e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina⁷.

El presente trabajo tiene como objetivos evaluar el efecto del tiempo de reacción y relación enzima sustrato sobre el grado de hidrólisis de concentrados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus* L.) y determinar la actividad antibacteriana de las fracciones peptídicas obtenidas.

Métodos:

Obtención del concentrado proteínico (CP) de frijol lima.

Se utilizó el método reportado por Chel-Guerrero *et al.*,⁹. Se preparó una dispersión de harina/agua en una relación 1:6 (p/v), el pH se ajustó a 11 con una solución de NaOH 1 N y se agitó por 1 h a 400 rpm con ayuda de un agitador mecánico (Caframo RZR-1). Posteriormente la suspensión se pasó a través de dos tamices: malla 80 (177 µm) y 100 (147 µm) secuencialmente para separar el bagazo (rico en fibra) de la mezcla de almidón y proteína. El residuo sólido se lavó en tres ocasiones con agua destilada y el filtrado se recibió en un recipiente de plástico y se dejó reposar durante 1 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reposo, se decantó el sobrenadante (proteína en solución), para separar el sedimento rico en almidón. Al sobrenadante se le ajustó el pH a 4.5 con HCl 1 N, y se centrifugó a 1317 x g por 12 min (centrífuga Mistral 3000i) para recuperar el precipitado, el cual se secó a -45°C y 133 x 10⁻³ mbar en una liofilizadora Labconco Freezone.

Composición proximal.

Se realizó el análisis de la composición proximal a la harina y concentrado proteínico de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) de acuerdo a los procedimientos oficiales de la Association of Official Agricultural Chemists¹⁰. El nitrógeno se

determinó con un sistema Kjeltex (Tecator, Sweden) y el contenido de proteína se calculó como nitrógeno por 6.25 (método 954.01); la grasa se cuantificó a partir de la extracción con hexano durante 1h (método 920.39); las cenizas se calcularon como el peso remanente después de calcinar la muestra en una mufla a 550°C durante 4 h (método 923.03); la humedad se determinó por la pérdida de peso después de secar la muestra a 110°C por 4 h (método 925.09); la fibra cruda se calculó como el residuo orgánico combustible e insoluble que se obtiene después de digestión ácida y alcalina (método 962.09) y los carbohidratos se estimaron por diferencia como el extracto libre de nitrógeno (E.L.N.).

Hidrólisis enzimática limitada de frijol lima.

La obtención del hidrolizado proteínico se realizó de acuerdo a un diseño factorial 2^2 con cuatro con 4 puntos centrales en una distribución en tres bloques al azar, en donde los bloques fueron los sistemas enzimáticos empleados (Pepsina, la enzima comercial Flavourzyme^{MR} y el tratamiento secuencial con Pepsina-Pancreatina). Los factores principales y niveles que se evaluaron fueron el tiempo de reacción (10 - 60 min), la relación enzima sustrato (1:10 y 1:50 p/p) y la variable respuesta fue el grado de hidrólisis. La hidrólisis con pepsina (HP), y secuencial pepsina-pancreatina (HPP) se realizó de acuerdo a los métodos reportados por Domínguez-Magaña *et al.*,¹¹. Se prepararon suspensiones proteínicas al 4% p/v con relación al contenido de proteína presente en el concentrado, y se mantuvieron a 37°C en un baño con agitación constante. Posteriormente, la suspensión se ajustó a pH 2 con HCl 1N, y se adicionó la enzima pepsina en una relación 1:10 ó 1:50 p/p de acuerdo al diseño experimental. Para el tratamiento secuencial, la reacción enzimática se realizó con pepsina durante la mitad del tiempo de hidrólisis establecido en el diseño experimental y posteriormente se detuvo la reacción mediante un ajuste de la suspensión a pH 7.5 con NaOH 1N. Se procedió a la segunda digestión con pancreatina en una relación 1:10 ó 1:50 p/p, a la misma temperatura (37°C) y a pH 7.5 durante la segunda mitad del tiempo de hidrólisis. En la hidrólisis con la enzima comercial Flavourzyme^{MR} (HF) se utilizó el método descrito por Pedroche *et al.*,¹² con algunas modificaciones, en donde las suspensiones de concentrado proteínico se prepararon a una concentración de 4% p/v y una proporción de enzima sustrato de 1:50 ó 1:10 p/v y se emplearon 50, 30 y 10 LAPU·g⁻¹ de sustrato, de acuerdo al diseño experimental a un pH 7 y a una temperatura de 50°C. La reacción enzimática se interrumpió mediante calentamiento de la suspensión proteínica a 80°C durante 20 min. Los hidrolizados se centrifugaron en una ultracentrifuga Beckman LE-80K a 16211 x g durante 30 min a 4°C y el sobrenadante se mantuvo en congelación para luego ser liofilizado a -47°C y 13x10⁻³mbar. Se determinó el grado de hidrólisis (GH) de los hidrolizados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) de acuerdo a Nielsen *et al.*,¹³.

Fraccionamiento y determinación cuantitativa de proteína.

Se tomaron los sobrenadante previamente obtenidos de los hidrolizados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) y se fraccionaron a través de ultrafiltración utilizando una membrana con un corte de peso molecular de 10 kDa. Se colectaron dos fracciones de manera separada: la retenida >10 kDa y la permeada < 10 kDa.. Las fracciones se liofilizaron a -47°C y 13x10⁻³ mbar en un liofilizador Labconco y se les determinó el contenido de proteína mediante el método de Lowry *et al.*,¹⁴. En un tubo de ensayo se colocaron 100 µL de muestra diluida (10 µL de muestra en 1 mL de agua destilada) y se añadieron 100 µL de hidróxido de sodio 2N, se homogenizó el contenido mediante agitación en vortex durante 30 s y se calentó el tubo en un baño a 100°C durante 10 min. Se retiró el tubo del baño y se dejó enfriar durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó 1 mL de reactivo complejo, preparado con carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 2.0%, sulfato cúprico (CuSO₄·4H₂O) al 1% y tartrato de sodio y potasio (C₄H₄KNaO₆·4H₂O) al 2%, en relación 100:1:1 (v/v/v). Se homogenizó el contenido mediante agitación en vortex durante 30 s y se colocó en la obscuridad durante 10 min a temperatura ambiente. Después se agregaron 100 µL de reactivo Folin-Ciocalteu al 50%, se homogenizó el contenido mediante agitación en vortex durante 30 s, se colocó en la obscuridad durante 45 min a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia a 750 nm. La cuantificación se hizo mediante una recta de calibrado preparada a partir de una solución de 1 mg·mL⁻¹ de seroalbúmina bovina (BSA).

Capacidad antibacterial.

Para esta actividad se utilizó la parte soluble de los hidrolizados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) que presentaron un grado de hidrólisis bajo, la cual fue fraccionada en <10 KDa y >10 KDa y a la que también se le determinó la cantidad de proteína presente. La metodología empleada fue la propuesta por Chim-Chi *et al.*,¹⁵ se emplearon 3 cepas patógenas: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella tiphimurium* y *Escherichia coli*. Primero se sembraron las cepas en tubos con rosca de 50 mL, cada cepa con 5 mL de caldo nutritivo, se incubaron a 37°C y 150 rpm durante 24 h en una incubadora Lab-line Orbit. Posteriormente, los caldos se diluyeron hasta una concentración de 1x10⁵ unidades formadoras de colonias por ml (ufc·mL⁻¹). Para el conteo de ufc·mL⁻¹ de cada cepa se aplicó la técnica de la gota¹⁶. En cajas de petri estériles se colocaron 5 cilindros de borosilicato con un diámetro externo de 7 mm a las cuales se les agregaron 25 mL de agar Mueller Hinton previamente esterilizado. Una vez gelificado el agar, se retiraron los cilindros formadores de los pozos. Las cajas se colocaron a 37°C en una incubadora Quincy Lab R-104E, para la prueba de esterilidad durante 24 h. Después se depositaron 100 µL del hidrolizado proteínico con bajo grado de hidrólisis diluido en agua destilada estéril con concentraciones diferentes de proteína (50, 60 y 70 mg·mL⁻¹) en tres pozos y en los restantes se colocaron 100 µL de una solución de Amikacina (1.25 mgmL⁻¹) como control positivo y 100 µL de agua estéril como control negativo. Posteriormente las cajas se incubaron a 4°C durante 1 h, se atemperaron y se

procedió a inocular las cepas con un hisopo estéril. Finalmente, las cajas fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Las zonas de inhibición se observaron directamente en la caja de petri con ayuda de un contador de colonias y fueron medidas con la ayuda de un vernier. La lectura se tomó atravesando el centro de la misma a fin de incluir el diámetro del pozo, reportándose como la inhibición en mm.

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron procesados mediante estadística descriptiva, utilizando medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar). En la resolución de los diseños experimentales se empleó el software Statgraphics XV Centurión, en donde se realizó análisis de varianza y regresión lineal para determinar cuál de los dos factores estudiados presentaron influencia sobre la variable respuesta, así como una comparación de medias a través de la prueba de Tukey¹⁷.

Resultados:

Composición proximal de harina y concentrado proteínico de *Phaseolus lunatus*.

La composición proximal tanto de la harina como del concentrado proteínico del frijol lima se muestran en la tabla I. Se puede observar que el nivel de humedad en la harina de *Phaseolus lunatus* (HaP) fue bajo a comparación con el concentrado proteínico (CP) de la misma leguminosa lo cual puede deberse al hecho de la naturaleza hidrofílica de las proteínas, ya que diferencias microestructurales entre los componentes hacen que sean más o menos capaces de retener moléculas de agua¹⁸.

Componente (%)	Harina de <i>Phaseolus lunatus</i>	Concentrado proteínico de <i>Phaseolus lunatus</i>
Humedad	(4.70) ^b	(9.97) ^a
Proteína cruda	19.61 ^b	71.11 ^a
Fibra cruda	2.38 ^a	0.59
Grasa cruda	1.06 ^b	3.72 ^a
Cenizas	2.70 ^b	4.21 ^a
E.L.N ²	74.25 ^a	20.37 ^b

¹ Los datos provienen de tres repeticiones. ²ELN: Extracto libre de nitrógeno, calculado por diferencia a los demás componentes. ^{a-b}Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

Hidrólisis enzimática y grado de hidrólisis.

Los grados de hidrólisis (GH) más bajos de los concentrados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) que se obtuvieron fueron: 8.48, 9.58 y 7.40% para los sistemas enzimáticos pepsina (HP), Flavourzyme^{MR} (HF) y el sistema secuencial pepsina-pancreatina (HPP), respectivamente (Tabla II). El GH es la propiedad fundamental que va a determinar en gran medida las características que el hidrolizado va a presentar y su posible uso¹⁹. También es de importancia mencionar que el GH es una medida de la magnitud de la degradación hidrolítica de una proteína¹³. Es esto quiere decir, que es el grado de modificación estructural que tiene una proteína nativa con la consecuente generación de nuevos péptidos de menor peso molecular.

Tratamiento	Factor A Relación E/S	Factor B Tiempo (min)	GH% Pepsina	GH% Flavourzyme	GH% Pepsina-Pancreatina
1	1:50	10	8.48±0.40	9.58±0.25	7.4±0.85
2	1:10	10	14.28±0.06	14.57±0.10	16.54±0.54
3	1:50	60	12.59±0.19	12.03±1.42	15.89±0.36
4	1:10	60	15.08±0.16	25.14±2.92	20.54±0.50
0	1:30	35	14.07±0.02	13.23±0.56	14.97±0.28
0	1:30	35	17.18±0.27	16.44±0.18	13.83±0.29
0	1:30	35	14.19±0.46	12.46±0.08	15.04±0.37
0	1:30	35	13.49±0.39	16.07±0.10	13.51±0.71

Al realizarse el análisis estadístico al diseño planteado se halló que los dos factores principales factor A: relación E/S y factor B: tiempo de hidrólisis tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$), así como también la interacción de los factores: relación E/S-tiempo de hidrólisis, siendo el primer factor el que más impacto presentó sobre la respuesta (GH). El modelo matemático polinomial de primer orden que explica este comportamiento fue el siguiente:

$$\% \text{ GH} = 14.4417 + 3.3483 \text{ A} + 2.5350 \text{ B} + 0.0266 \text{ AB}$$

El nivel inferior de cada factor fue codificado con -1 y el nivel superior con +1. El modelo matemático permitió establecer que el GH está en función de la relación enzima sustrato que se utilice así como del tiempo que dure la hidrólisis y de la interacción de estos dos factores, con un coeficiente de determinación R^2 de 0.7321, esto quiere decir que el modelo explica el 73.2% del comportamiento de los datos.

Determinación de proteína en las fracciones peptídicas del hidrolizado proteínico.

De los hidrolizados limitados obtenidos, el sobrenadante se fraccionó por medio de ultrafiltración y se generaron dos fracciones: una menor a 10 kDa y una mayor 10 kDa (Figura I). El motivo por el cual se empleó la separación en fracciones peptídicas es que los péptidos con actividad antibacteriana generalmente presentan un peso molecular menor a 10 kDa⁵.

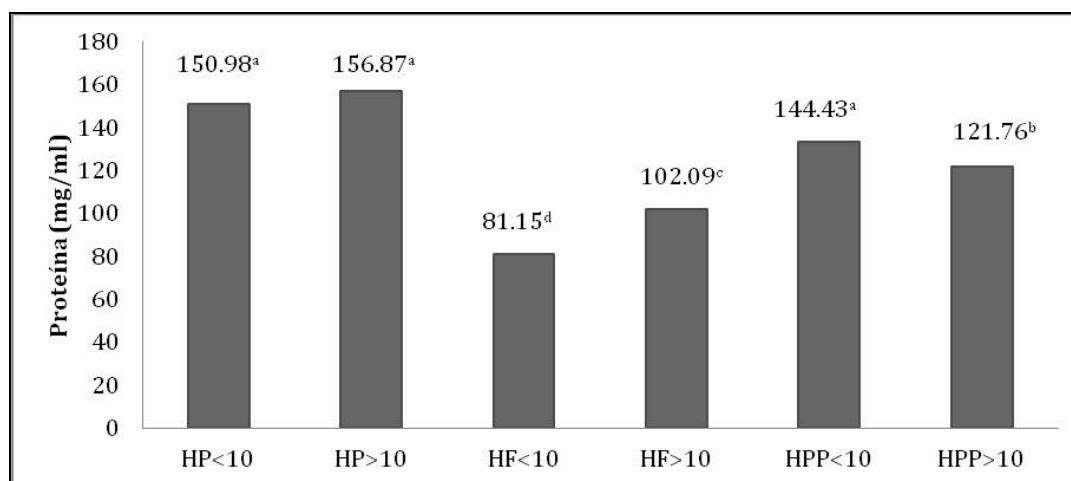


Figura I. Contenido de proteína de las fracciones peptídicas de los sobrenadantes de los hidrolizados limitados de *Phaseolus lunatus* (HP, HF y HPP). ^{a-c}Letras diferentes de la fracción que proviene del mismo sistema enzimático indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Como se puede observar en la figura anterior para HP sus fracciones fueron iguales de manera significativa ($p < 0.05$), en cuanto a HF de sus dos fracciones la que fue > 10 kDa presentó mayor cantidad de proteína de manera significativa a diferencia de la de < 10 kDa ($p < 0.05$), lo cual pudo deberse al grado de hidrólisis limitado, ya que los péptidos que se liberaron durante la hidrólisis fueron muy grandes. A diferencia en HPP que presentó una fracción < 10 kDa mayor que a la fracción > 10 kDa.

Evaluación de la capacidad antibacteriana.

Se determinó el efecto inhibitorio de las fracciones < 10 kDa y > 10 kDa de los hidrolizados de proteína limitados HP, HF y HPP sobre el crecimiento bacteriano, ya que de acuerdo a la literatura las fracciones menores de 10 kDa presentarían dicha bioactividad. Los resultados de la capacidad antibacteriana de las fracciones de los tres hidrolizados proteínicos HP, HF y HPP se presentan en las Figuras II, III y IV contra bacterias que causan patologías relacionadas a los alimentos como son: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*.

Las fracciones peptídicas fueron probadas frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* y no presentaron una capacidad antibacteriana observable en mm de inhibición frente a las cepas antes mencionadas. Resultados similares fueron reportados por Marrufo-Estrada *et al.*,²⁰ que empleando solo hidrolizados proteínicos de *Jatropha curcas* L. con grados de hidrólisis altos (10.4, 10.6, y 11.5% con alcalasa y 19.3, 18.8 y 19% secuencial pepsina-pancreatina) frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus agalactiae* y por Chim-Chi *et al.*,¹⁵ utilizando hidrolizados de proteína de *Jatropha curcas* L. (GH de 27.36 y 33.24%) y *Vigna unguiculata* (GH de 30.31 y 46.41%), estos autores indicaron la ausencia de capacidad antibacteriana de los hidrolizados proteínicos que obtuvieron debido a los altos GH que alcanzaron.

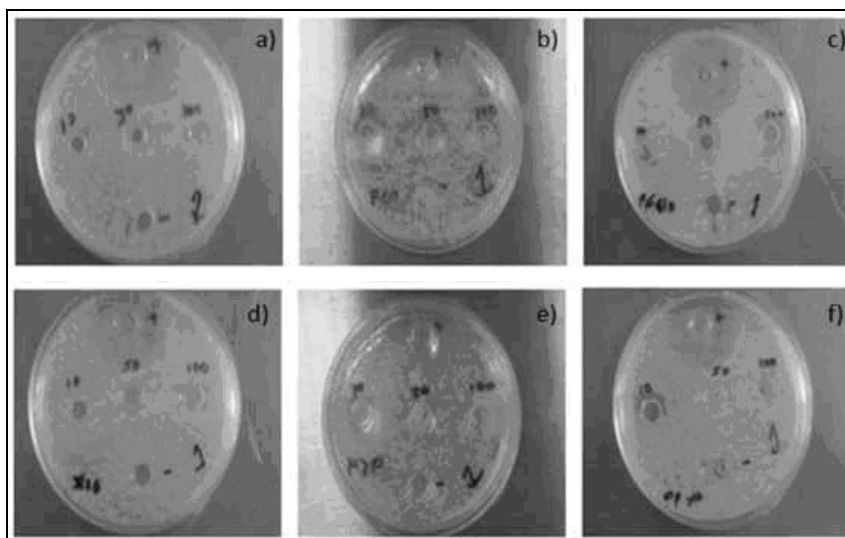


Figura II. Capacidad antibacteriana de los hidrolizados proteínicos HP, HF y HPP contra *E. coli* (a, b y c menores de 10 KDa; d, e, y f mayores de 10KDa).

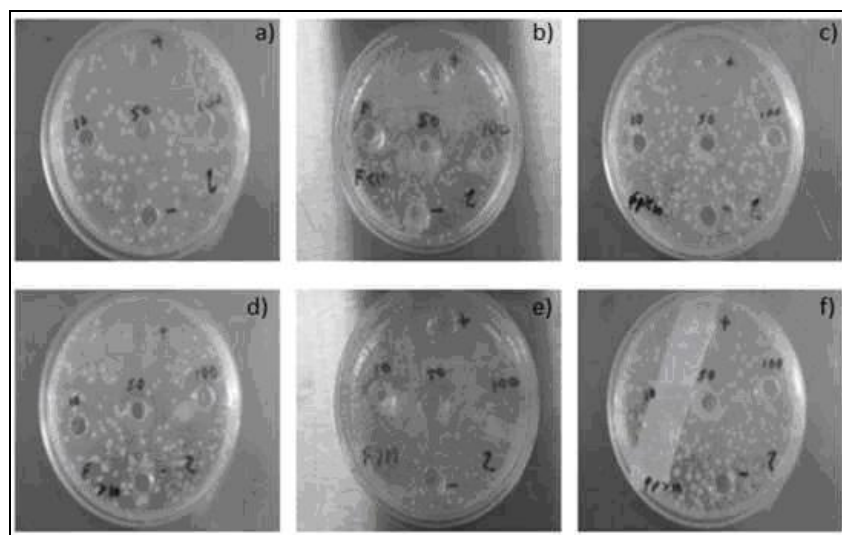


Figura III. Capacidad antibacteriana de los hidrolizados proteínicos HP, HF y HPP contra *S. typhimurium* (a, b y c menores de 10 KDa; d, e, y f mayores de 10KDa).

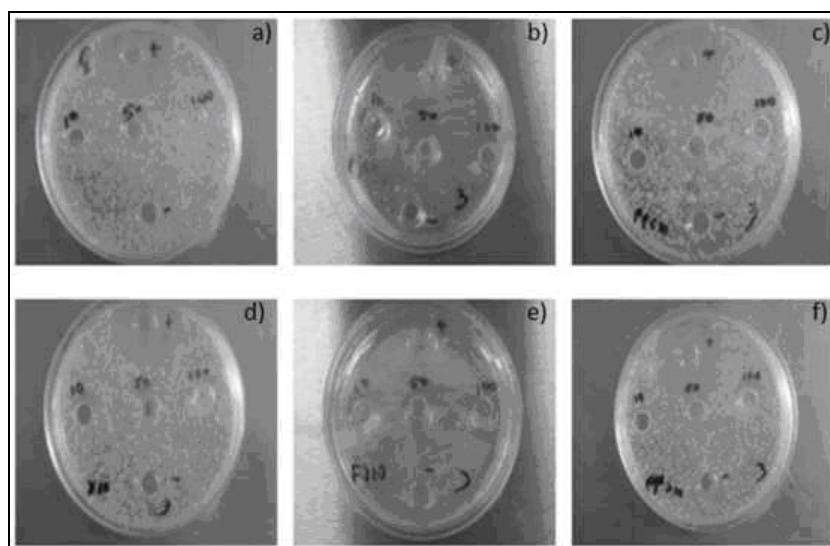


Figura IV. Capacidad antibacteriana de los hidrolizados proteínicos HP, HF y HPP contra *S. aureus* (a, b y c menores de 10 KDa; d, e, y f mayores de 10KDa).

Discusión:

El contenido de proteína de la harina y concentrado proteínico fue de 19.60 y 71.11%, respectivamente. Chel-Guerrero *et al.*,⁹ obtuvieron valores de contenido de proteína en harina y concentrado proteínico de *Canavalia ensiformis*

con 26.86 y 73.75%, respectivamente, siendo el contenido de proteína similar al encontrado en el concentrado proteínico de *Phaseolus lunatus* (71.11%). Este valor fue semejante al reportado por Betancur-Ancona *et al.*, (69.9 %), pero ligeramente menor al hallado por Polanco *et al.*, (2014) con 72.01 %. Domínguez-Magaña *et al.*,¹¹ utilizando la misma leguminosa encontró valores de proteína cruda de 30.18 y 56.40% para harina y concentrado proteínico, respectivamente, que fueron obtenidos de granos sin germinar al igual que con los granos con los que se trabajaron en el presente trabajo.

La variabilidad en contenidos de proteína que existió, pudo deberse a la composición original de la materia prima y al método de preparación empleado en la extracción proteínica. En el contenido de grasa cruda, se observó un incremento en el CP (3.72%) pero este fue menor comparado con el reportado por Chel-Guerrero *et al.*,⁹ para *C. ensiformis* (5.12%). Por otro lado, Corzo-Ríos *et al.*,²¹ reportan un incremento en el contenido graso del CP (19.26%) de *Mucuna pruriens* en comparación con la harina (2.83%). El aumento del contenido graso en el concentrado proteínico puede deberse a la asociación de los lípidos con las proteínas que se produce durante su obtención, en donde se ve favorecida esta unión por la desnaturalización de las proteínas durante el proceso, esto debido a la exposición de aminoácidos hidrofóbicos ocultos en la proteína nativa que posteriormente se asocian con las cadenas alifáticas de los lípidos. La disminución en la fibra cruda y el ELN en el CP, 0.59 y 20.37%, respectivamente, en comparación con la HP (2.38 y 74.26%, respectivamente) se le puede atribuir al método de fraccionamiento húmedo donde se separó la fibra cruda a través de un tamizado secuencial y el ELN por la sedimentación del almidón²².

La hidrólisis con la enzima pepsina dio valores de GH entre 8.48 y 17.18%. Esta enzima es una proteasa aspártica y tiene una especificidad hacia el carbono terminal de los residuos de tirosina, fenilalanina y triptófano y también es una endopeptidasa. El GH más alto que se obtuvo, está de acuerdo a lo encontrado por Tsumura *et al.*,²³ utilizando la enzima pepsina en una relación 1:40 E/S y 30 min que obtuvieron hidrolizados del componente glicinina de la soja con un GH de 15%. Por otra parte, Paraman *et al.*,²⁴ reportan valores de GH menores al 10% utilizando esta enzima durante diferentes tiempos hasta 75 min. También Megías *et al.*,²⁵ obtuvieron un GH de 15.5% después de 3 h con una relación E/S de 1:20. En comparación con los otros sistemas enzimáticos, al emplear solo la enzima pepsina se lograron valores de GH que no sobrepasaron el 18% lo cual puede atribuirse tanto a la actividad catalítica como a la especificidad que exhibe hacia el sustrato. La enzima Flavourzyme^{MR} es de origen microbiano y es muy utilizada para mejorar las propiedades funcionales y nutrimentales de preparaciones proteínicas y su actividad catalítica es una mezcla de endo y exopeptidasa. En cuanto a esta enzima, los valores de GH que se obtuvieron oscilaron entre 9.58 y 25.14%. En comparación a los resultados obtenidos, estos fueron mayores al valor reportado por Betancur-Ancona *et al.*,¹⁸ con un GH de 7.7% quienes emplearon una relación 1:200 E/S y un tiempo de 60 min utilizando proteína de *P. lunatus* como sustrato.

En el sistema enzimático secuencial pepsina-pancreatina, estas son proteasas liberadas durante la digestión, la primera es generada en el estómago y la segunda incluye otras proteasas tales como la tripsina, quimiotripsina, elastasa que son liberadas por el páncreas en el intestino delgado²⁵, la tripsina tiene especificidad sobre lisina y arginina; la quimiotripsina sobre triptófano, fenilalanina y tirosina y por último la elastasa sobre glicina y alanina. El valor más bajo y más alto de GH empleando este sistema secuencial fueron de 7.40 y 20.54%, respectivamente, por lo que son menores a lo reportado por Chim-Chi *et al.*, (2013)¹⁵ que utilizando este sistema enzimático secuencial pepsina-pancreatina obtuvo valores de GH entre 22.71 y 34.47%, en tiempos que van desde 30 min hasta 120 min con una relación E/S 1:10 para *Jatropha curcas* y también valores entre 33.71 y 47.69% a las mismas condiciones con *Vigna unguiculata*. Domínguez-Magaña *et al.*,¹¹ obtuvo valores de GH con este mismo sistema secuencial que oscilaron entre 15.35 y 37.07% en tiempos que van desde 60 hasta 180 min con una relación de E/S 1:50 y 1:10, respectivamente. Los hidrolizados de proteína producidos por este sistema enzimático secuencial pueden ser fácilmente asimilados por el organismo y también si estos generaran alguna bioactividad no se verían afectados debido a que son factibles de presentarse durante la digestión, y la variación en los GHs puede deberse a la acción conjunta de las dos enzimas empleadas que generaron una amplia diversidad de péptidos y polipéptidos, también es de notarse que con este sistema se produjo el más bajo GH entre las enzimas empleadas que puede atribuírsele al tiempo de hidrólisis ya que fue un periodo realmente corto (5 min por enzima) que influyó en el grado de hidrólisis final. Por lo anterior, se observa que la relación enzima-sustrato y el tiempo durante el cual se realiza la hidrólisis son factores claves que afectan significativamente el GH final. Los grados de hidrólisis (8.48, 9.58 y 7.40% para HP, HF y HPP, respectivamente) indican la presencia de polipéptidos e incluso la posibilidad de proteínas nativas, por lo tanto, los hidrolizados de proteína obtenidos podrían tener aplicaciones tecnofuncionales. Estos resultados indican que la incorporación de estos hidrolizados en la formulación de alimentos sería algo beneficioso no solo porque serían una buena fuente de nitrógeno y aminoácidos al cuerpo, sino porque son una buena fuente alterna de proteínas frente a las proteínas de origen animal que han venido incrementado sus costos.

Aunque todos los hidrolizados fraccionados eran limitados, la variación en el comportamiento en cuanto al contenido de proteína determinado en las fracciones se le puede atribuir a la formación de péptidos de diferentes tamaños e incluso aminoácidos libres después de la hidrólisis parcial, que es notorio en el caso de HPP ya que presento una fracción <10 kDa mayor que su fracción >10 kDa. Así también, a pesar de que HF presentó el GH más alto de los tres hidrolizados proteínicos el comportamiento que presenta puede atribuírsele a la variación en el contenido de tirosina de los péptidos. La ultrafiltración es una herramienta para refinar los hidrolizados e incrementar su actividad específica en la perspectiva de la modernización de la industria de los subproductos para producir ingredientes bioactivos para alimentación humana y animal por lo que el fraccionamiento de acuerdo a los pesos moleculares es una buena alternativa para depurar péptidos e incrementar sus propiedades bioactivas²⁶.

Son pocos los trabajos sobre la obtención de péptidos antibacterianos a través de hidrólisis enzimática de origen

vegetal; sin embargo, se ha encontrado actividad antibacterial utilizando hidrolizados de proteína de pasta de la palma Kernel frente a *Bacillus cereus* en donde usaron sistemas enzimáticos de pepsina y tripsina. También utilizando *Brucea amarissima* encontraron y aislaron un péptido con actividad contra bacterias Gram- negativas y Gram-positivas después de una hidrólisis con pepsina²⁷. Una explicación para la ausencia de efecto inhibitorio en esta prueba pudo deberse al GH de los hidrolizados proteínicos utilizados para esta bioactividad (GH de 8.48 para HP, 9.58 para HF y 7.40 % para HPP) ya que entre menor sea este suele obtenerse una mayor actividad frente a los microorganismos, lo cual se viene a confirmar con lo recientemente reportado por Bojórquez-Balam *et al.* (2013)²⁸ quienes obtuvieron un hidrolizado proteínico de *Phaseolus lunatus* con capacidad antibacterial contra *S. aureus* y *S. flexneri* y el cual presentaba un GH de 5.5% que fue menor al obtenido en este estudio.

Conclusión:

Se obtuvieron fracciones peptídicas a partir de la hidrólisis enzimática del concentrado proteínico de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) con las enzimas pepsina, Flavourzyme^{MR} y secuencial pepsina-pancreatina con grados de hidrólisis de 8.48, 9.58 y 7.40%, respectivamente. A pesar de ser hidrolizados limitados no presentaron capacidad antibacterial contra *Escherichia coli*, *Salmonella tiphimurium* y *Staphylococcus aureus*.

Fuentes de Apoyo:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México)

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Referencias

1. Rodriguez D, Schöbitz R. Film antimicrobial bases whey protein, lactic acid bacteria incorporated as controller *Listeria monocytogenes* applied to smoked salmon. *Fac. Cienc. Agrop.* 2009; 7 (2):49-54.
2. Davison PM, Harrison MA. Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers and other. *Food Technol.* 2002; 56 (11):69-78.
3. Gutiérrez P, Orduz S. Péptidos antimicrobianos: estructura, función y aplicaciones. *Act. Biol.* 2003; 25 (78):5-15.
4. Mine Y, Shahidi F. Nutraceutical proteins and peptides in health and disease: An overview. En *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease*; Mine, Y., Shahidi, F., Eds; Taylor & Francis group, 2006; pp. 4-25
5. Rydlo T, Miltz J, Mor A. Eukaryotic antimicrobial peptides: Promises and premises in food safety. *J. Food Sci.* 2006; 71 (9):125-135.
6. Imran M, Revol-Junelles A, René N, Jamshidian M, Akhtar MJ, Arab-Tehrany E, Jacquot M, Stéphane-Desobry S. Microstructure and physico-chemical evaluation of nano-emulsion-based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films. *Food Hydrocoll.* 2012;29: 407-419.
7. Polanco E, Dávila-Ortiz G, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. Effects of sequential enzymatic hydrolysis on structural, bioactive and functional properties of *Phaseolus lunatus* protein isolate. *Food Sci. Technol.* 2014; 34 (3):441-448.
8. Córdova-Lizama A, Ruiz-Ruiz J, Segura-Campos M, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. Actividad antitrombótica y anticariogénica de hidrolizados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*). En *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias*, Segura Campos, M., Betancur Ancona, D. Chel Guerrero, L. Eds.; Omnia Science, 2013; pp. 123-137.
9. Chel-Guerrero L, Pérez-Flores V, Betancur-Ancona D, Dávila-Ortiz G. Functional Properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds, *J. of Agric. Food Chem.* 2002; 50: 584-591.
10. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1997). *Methods of analysis of association of official analytical chemists.* 16 th Edition Washington, D.C.
11. Domínguez-Magaña M, Segura-Campos M, Dávila-Ortiz G, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. ACE-I inhibitory properties of hydrolysates from germinated and ungerminated *Phaseolus lunatus* proteins, *Food Sci. Technol.* 2015; 35 (1):167-174.
12. Pedroche J, Yust MM, Girón-Calle J, Alaiz M, Millán F, Vioque, J. Utilisation of Chickpea protein isolates for production of peptides with angiotensin-I converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. *J. Sci. Food Agric.* 2002; 82: 960-965.
13. Nielsen P, Petersen D, Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *J. Food Sci. Food Chem. Toxicol.* 2001; 66 (5):642-646.
14. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr L, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. of Biol. Chem.* 1951; 193:267-275
15. Chim-Chi Chim YA, Martínez AA, Chel-Guerrero L. Caracterización de hidrolizados de *Jatropha curcas* y *Vigna unguiculata*. EAE Editorial Academia Espanola, USA 2013
16. Corona A, Jiménez R. Comparación de dos métodos de siembra para el recuento de microorganismos en

- muestras con alta concentración microbiana. Rev. Fac. Ing. Quím. 2004; 40:3-7.
17. Montgomery, D. C. Diseño y análisis de experimentos. 2da Ed. Editorial Limusa. México, D. F. 2006.
 18. Betancur-Ancona D, Martínez-Rosado R, Corona-Cruz A, Castellanos-Ruelas A, Jaramillo-Flores M, Chel-Guerrero L. Functional properties of hydrolysates from *Phaseolus lunatus* seeds. Int. J. Food Sci. Technol. 2009; 44 (1): 128-137.
 19. Benítez R, Ibarz A, Pagan J. Hidrolizados de proteína: Procesos y aplicaciones. Acta Bioq. Clin. Lat. 2008; 42 (2):227-236.
 20. Marrufo-Estrada DM, Segura-Campos MR, Chel-Guerrero LA., Betancur-Ancona DA. Defatted *Jatropha curcas* flour and protein isolate as materials for protein hydrolysates with biological activity. Food Chem. 2013; 138:77-83.
 21. Corzo-Ríos L, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. Extracción de las fracciones de almidón y proteína del grano de la leguminosa *Mucuna pruriens*. Technol. Cienc. Educ. 2000; 15 (1):37-41.
 22. Betancur-Ancona D, Gallegos-Tintore S, Chel-Guerrero, L. Wet-fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein. J. Sci. Food Agric. 2004; 84: 1193-1201.
 23. Tsumura K, Saito T, Tsuge K, Ashida H, Kugimiya W, Inouye K. Functional properties of soy hydrolysates obtained by selective proteolysis. LWT-Food Sci Tech. 2005; 38: 255-261.
 24. Paraman I, Hettiarachchy NS, Schaefer C, Beck MI. Hydrophobicity, solubility and emulsifying properties of enzyme-modified rice endosperm protein. Cereal Chem. 2007; 84(4): 343-349.
 25. Megías C, Pedroche J, Yust MM, Alaiz M, Girón-Calle, J. Millán F, Vioque J. Sunflower protein hydrolysates reduce cholesterol micellar solubility. Plants Foods Hum. Nutr. 2009; 64: 86-93.
 26. Picot L, Ravallec R, Fouchereu-Péron M, Vandanjon L, Jaouen P, Chaplain-Derouiniot M, Guérard F, Chabeaud A, LeGal Y, Martinez O, Bergé JP, Piot J, M., Batista I, Pires C, Thorkelsson G, Delannoy C, Jakobsen G, Johansson I, Bourseau P. Impact of ultrafiltration and nanoiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. J. Sci. Food and Agric. 2010; 90 (11): 1819-1826
 27. Sornwatana T, Roytrakul S, Wetprasit N, Ratanapo S. A new antimicrobial peptide from digestion of *Brucea amarissima* Desv fruit protein. 36th Congress on Science and Technology of Thailand. 2010; pp. 1-4.
 28. Bojórquez-Balam E, Ruiz-Ruiz J, Segura-Campos M, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de fracciones peptídicas de hidrolizados proteínicos de frijol lima (*Phaseolus lunatus*). M. Segura-Campos, L. Chel Guerrero, D. Betancur Ancona (Eds.), Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias. Barcelona: OmniaScience. 2013; pp. 139-154.



Original
Artículo español

Inducción de infección en Teosinte (*Zea diploperennis*) con el fitopatógeno *Ustilago maydis*.

Induction of infection in Teosinte (*Zea diploperennis*) through the phytopathogen *Ustilago maydis*.

Martha Concepción Pérez Díaz¹, Marco Antonio Sánchez Medina¹, María del Socorro Pina Canseco², Eduardo Pérez Campos¹, Iván Antonio García-Montalvo¹, Alma Dolores Pérez Santiago¹

¹Unidad de Bioquímica e Inmunología, Instituto Tecnológico de Oaxaca, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

²Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca, Oaxaca, México.

Resumen

Introducción: El maíz y teosinte comparten similitudes morfológicas y moleculares siendo estas últimas las que sustentan la teoría del teosinte (*Zea parviglumis*) como su antecesor, ambas especies son atacadas por fitopatógenos específicos, como *Ustilago maydis*.

Objetivo: Analizar el proceso infeccioso que presenta *U. maydis* sobre el teosinte variedad *Zea diploperennis*.

Materiales y Métodos: Se utilizó la cepa de *U. maydis* FB-D12, la cual se mantuvo en medio de cultivo rico en nutrientes (CPES) pH 7.0. Se emplearon células viables y sin alteraciones morfológicas para la inoculación por el método de punción en las plántulas de teosinte. El seguimiento de la infección se realizó cada 24 horas midiendo concentración de clorofila y observación microscópica del tejido vegetal.

Resultados: En las plántulas de *Zea diploperennis* inoculadas con *U. maydis* se presentaron los síntomas de la infección, marchitamiento y clorosis en las hojas; esto se confirmó con la baja concentración de clorofila 12 días posteriores a la inoculación. En la observación microscópica de cortes del tejido vegetal se encontró micelio largo y ramificado a partir del tercer día de la inoculación, hasta la aparición de tumores en plántulas de 45 días.

Conclusiones: Los signos característicos de la infección con *Ustilago maydis* en la variedad de teosinte *Zea diploperennis* no difieren de los reportados para el maíz. *U. maydis* presenta su ciclo de vida completo dentro de la planta confirmando que la variedad *diploperennis* es susceptible.

Palabras clave

Ustilago maydis; teosinte; *Zea diploperennis*; infección; huitlacoche

Abstract

Introduction: The corn and teosinte share morphological and molecular similarities latter being those that support the theory of teosinte (*Zea parviglumis*) as its predecessor, both species are attacked by specific pathogens like *Ustilago maydis*.

Objective: To analyze the infectious process that presents *U. maydis* on the variety of the teosinte *Zea diploperennis*.

Materials and Methods: We used the strain of *U. maydis* FB-D12, which was kept a culture media rich in nutrients (CPES) pH 7.0. Viable cells without morphological alterations to the inoculation method of puncture in teosinte seedlings were used. Monitoring of infection was carried out every 24 hours by measuring concentration of chlorophyll and plant tissue through microscopic observation

Results: In the seedlings of *Zea diploperennis* inoculated with *U. maydis* the symptoms of the infection were presented, wilt and chlorosis in the leaves; The chlorosis was confirmed with the low concentration of chlorophyll 12 days later to the inoculation. In the microscopic observation of cuts of the tissue plant was found mycelium long and branched from the third day of the inoculation, until the appearance of tumors in seedlings of 45 days.

Conclusions: The typical signs of infection with *Ustilago maydis* in the variety of teosinte *Zea diploperennis* do not differ from those reported for corn. *Ustilago maydis* presents its full life cycle within the plant, confirming that the *diploperennis* variety is susceptible.

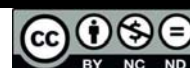
KEYWORDS

Ustilago maydis; teosinte; *Zea diploperennis*; infection; huitlacoche

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aperez_santiago@hotmail.com (Alma Dolores Pérez Santiago).

Recibido el 10 de octubre de 2016; aceptado el 28 de octubre de 2016.



Introducción:

Después de muchos años de estudios la hipótesis del teosinte como el antepasado silvestre del maíz ha sido ampliamente apoyada, aceptando su influencia en la alta variabilidad genética y desarrollo de las principales razas de maíz en Mesoamérica (Doebley 1990, Matsuoka *et al*, 2002). Con los datos genéticos disponibles se ha confirmado que la especie de teosinte *Z. mays ssp. parviglumis* es el antepasado directo del maíz más cercano (Kato, 1998; Aragón, 2006), mientras que *Zea diploperennis* resulta ser de las especies más prometedoras para usarse en el mejoramiento genético de maíz en áreas subtropicales, de acuerdo a los datos reportados por García *et al*, 2002, quien estimó el efecto de seis fuentes de teosinte en varias generaciones de recombinación de variedades sintéticas de maíz. Sin embargo, algunas especies de teosinte son muy distintas genética y taxonómicamente a las del maíz, y no parecen haber desempeñado ningún papel en el origen del mismo.

Los teosintes son plantas rústicas y silvestres que aún se encuentran en varias localidades de México, en muchas ocasiones se les considera como malas hierbas o maleza, y en otras son una fuente alterna de alimento para el ganado cuando escasea el forraje. Los teosintes (*Zea spp*) son gramíneas que engloban distintas especies: *Zea diploperennis*, *Zea perennis*, *Zea luxurians*, *Zea nicaraguensis*; y varias subespecies de *Zea mays*: *ssp. huehuetenangensis*, *ssp. mexicana* y *ssp. parviglumis* (Matsuoka *et al*, 2002).

Por otra parte, *Ustilago maydis* es el causante de la enfermedad del maíz conocida como “carbón del maíz”, su consumo como alimento humano proviene desde la época prehispánica, los aztecas lo llamaban “cuitlacoचित्ति” (suciedad, basura o excremento) y cochtli (dormido) (López, 1988). Es un hongo que presenta tres formas durante su ciclo de vida, a) una forma unicelular (esporidia) que es haploide uninucleada y presenta crecimiento saprofito; b) una forma filamentosa dicariótica, la cual es parasítica y patogénica; y c) una forma diploide (teliospora), la cual solamente es formada en los tumores de la planta hospedera (Christensen, 1963; Banuett, 1995).

U. maydis puede atacar a su huésped en cualquier estadio de crecimiento, produciendo síntomas que incluyen el desarrollo de tumores en mazorcas, espigas, hojas y tallos, los cuales dan como resultado alteraciones en la morfología de la planta y reducción del crecimiento y la producción de grano (Estrada *et al*, 2010). Debido a la importancia económica que el hongo ha adquirido y al desarrollo de técnicas para la inducción artificial de este, es importante estudiar la relación entre el patógeno y las variedades de hospedante. Se ha evaluado la severidad, incidencia y rendimiento del hongo por planta en diferentes variedades de maíces híbridos (Martínez, 2005; Valdez *et al*, 2009; Aguayo, 2016; Luna, 2015), encontrándose diferencias en la susceptibilidad a la infección, por ejemplo, el maíz dulce tiene un alto grado de sensibilidad (Valverde, 1993; Venegas, 1995). La resistencia a este hongo en diferentes variedades de maíz está asociada a caracteres morfológicos, fisiológicos y funcionales (Guevara-Lara *et al*, 2000). El maíz y teosinte comparten grandes similitudes morfológicas y moleculares siendo estas últimas las que sustentan la teoría del teosinte como antecesor del maíz; entre otras semejanzas se puede citar que ambas especies son atacadas por fitopatógenos específicos, como *Ustilago maydis*.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el proceso de infección en teosinte *Zea diploperennis* por *Ustilago maydis*, induciendo la infección y controlando parámetros de crecimiento. Según expertos, el teosinte contiene valioso material que puede mejorar y revigorizar genéticamente los actuales cultivos de maíz, ya que tolera la humedad, los fuertes vientos y las malezas; habita en las tierras altas con presencia de heladas esporádicas, y puede ser hibridado libremente en estado silvestre.

Materiales y Métodos:

Obtención de plántulas de teosinte

Se utilizaron semillas de la variedad *Zea diploperennis* recolectadas en el rancho “Texas” ubicado en el distrito de Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México; las cuales fueron sembradas en charolas de plástico de 15 x 60 cm, en donde se humedecieron cada 24 h manteniéndose a temperatura ambiente (27 ± 3 °C) durante 30 días.

Inducción de infección

Para inducir la infección en coleoptilos de teosinte se emplearon levaduras de *Ustilago maydis* de la cepa diploide denominada FB-D12, donada por el Dr. Carlos Leal Morales (Universidad de Guanajuato, Gto., México). Se utilizaron células viables y sin alteraciones morfológicas obtenidas de resiembras en medio de cultivo Caldo Papa Elote Sacarosa (CPES) pH 7.0, con incubación a 26 °C y 65 rpm (LAB LINE). Se empleó una suspensión de 2×10^6 cél/ml, mediante conteo en cámara de Neubauer. La inoculación se realizó por punción en la base de cada plántula con ayuda de una jeringa para insulina con aguja número 27Gx1/2”.

Análisis de la infección en plántulas de teosinte (*Zea diploperennis*)

A partir de las 24 horas posteriores a la inoculación se inició el análisis de las plántulas de teosinte, éste incluyó la observación microscópica para localizar levaduras en el tejido y zonas cercanas al punto de inoculación, cuantificación de clorofila, y la observación de tumores presentes en las mazorquillas, característicos de la infección. Las muestras de tejido de las plántulas se obtuvieron por cortes con bisturí, tanto de hojas como de zonas cercanas al sitio de punción. Éstos fueron extendidos sobre portaobjetos agregando rosa de bengala al 0.05%, se dejó actuar el colorante durante 4 minutos y se realizó la observación en microscopía de contraste de fases (Carl Zeiss Jen EmbH D-07740).

Para el análisis de clorofila, se preparó un extracto con 1 g de la plántula de teosinte macerada con 10 ml de acetona. La mezcla se filtró al vacío y se realizaron 2 extracciones más con 5 ml de acetona. El volumen total de extracto

obtenido se aforó a 25 ml con acetona, y se midió absorbancia en un espectrofotómetro (SPECTRONIC 20D, Milton Roy Company) a una longitud de onda de 645 y 663 nm. Para la determinación cuantitativa de la clorofila contenida en el extracto, expresada como mg de clorofila por gramo de tejido extraído, se ocupó la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila total} = 20.2(\text{absorbancia } 645\text{nm}) + 8.02(\text{absorbancia } 663\text{nm})(25\text{ml}/100 * 0.25\text{g})$$

Resultados:

La germinación de las semillas se hizo visible entre los días cuatro y cinco después de la siembra, observándose el coleoptilo y sus primeras hojas aún enrolladas. La cepa de *Ustilago maydis* se mantuvo en condiciones óptimas para ser inoculada, según se muestra en la figura 1, con su morfología típica, tamaño y proliferación suficiente para alcanzar el número de células requeridas para la infección.

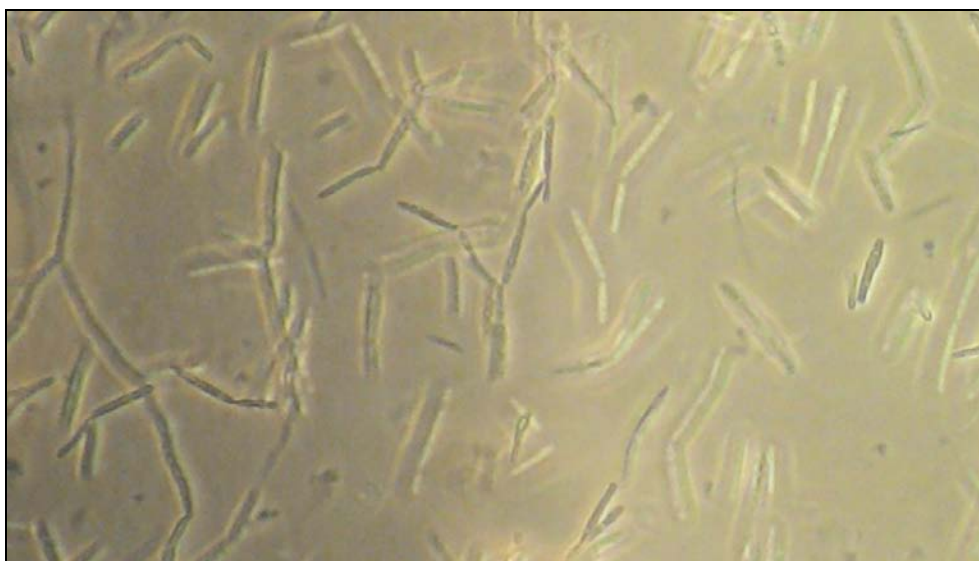


Figura 1. Levaduras de *Ustilago maydis* (cepa FBD12), observadas en un objetivo de 40X (Carl Zeiss Jen EmbH D-07740).

Cuando la infección se presentó en las plántulas inoculadas se observó marchitamiento y clorosis en las hojas a partir del día 3 después de la inoculación. Se midió la clorofila en éstas plantas como indicativo de infección, así como en plantas sanas usadas como control, observando que no hubo diferencias entre la planta sana y la infectada durante los primeros 10 días; en la planta infectada disminuyó la concentración de clorofila después del día 12, la cual se mantuvo baja hasta después de los 20 días (figura 2).

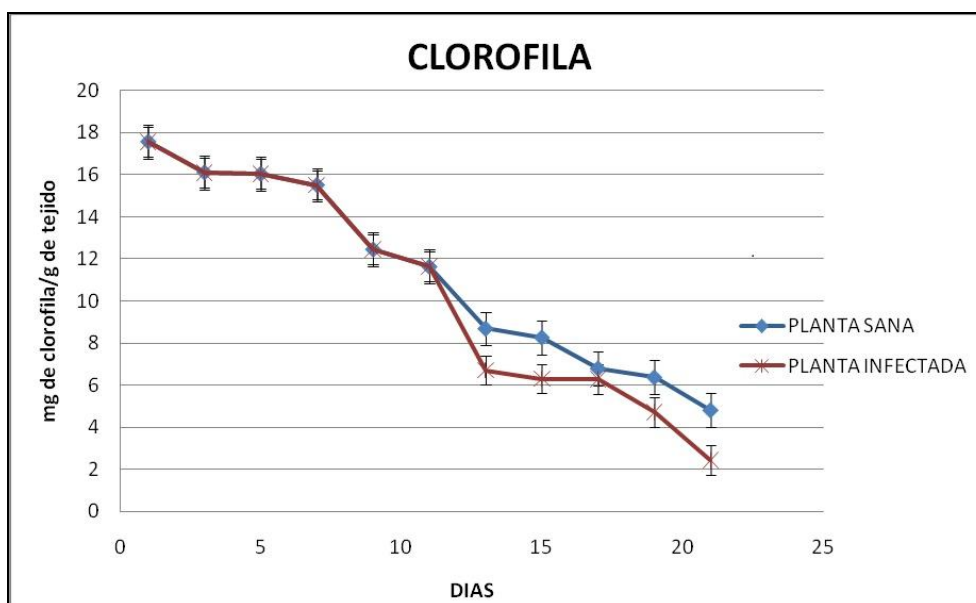


Figura 2. Concentración de clorofila en plantas sanas vs inoculadas con *Ustilago maydis* (cepa FB-D12).

La evidencia mas convincente de la infección en las plántulas fue obtenida a través de microscopía, observando tejidos cercanos al punto de inoculación y hojas. A las 24 horas posteriores a la inoculación, se observó un gran número de levaduras en la zona cercana a la punción (figura 3), y en hojas (figura 3a); a partir del tercer día se encontró micelio largo y ramificado en las muestras (figura 3b, 3c).

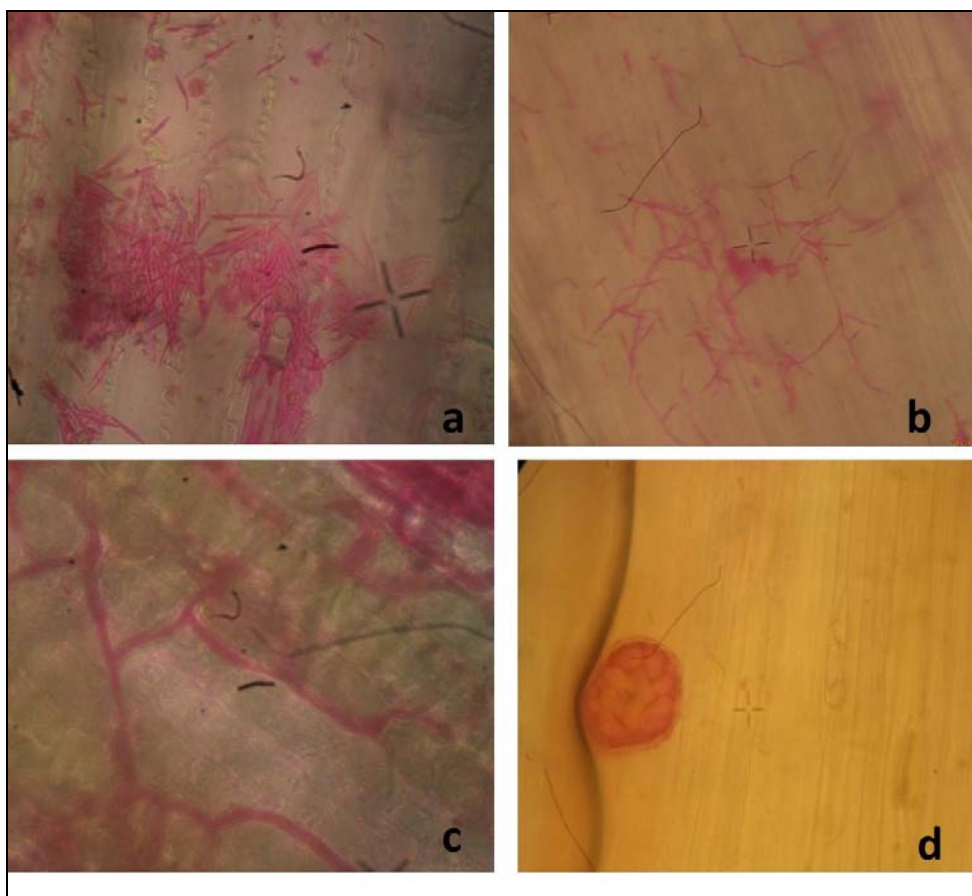


Figura 3. Observación microscópica de tejido de teosinte infectado. a) Levaduras de *Ustilago maydis* en el objetivo de 45X; b) Formación de micelio observado en el objetivo de 10X; c) 45X; d) Una espora del fitopatógeno en el objetivo 45X .

Confirmada la infección en las plántulas de teosinte, éstas fueron pasadas a tierra donde continuaron su crecimiento durante 30 días más, y finalmente pudieron observarse esporas (figura 3d). Las tumoraciones características de *U. maydis* se presentaron en algunas mazorquillas del teosinte, similares a las que aparecen cuando este patógeno infecta al maíz de manera silvestre (figura 4).



Figura 4. Tumoraciones producidas en teosinte (*Zea diploperennis*) a través de la infección con *U. maydis* (cepa FB-D12).

Discusión:

El fitopatógeno *U. maydis* es un basidiomiceto conocido por causar la enfermedad llamada carbón común en maíz, esta infección propicia la formación de grandes tumores o agallas que al desarrollarse en la mazorca se conocen como “huitlacoche o cuiltacoche”, usadas en México para la preparación de diferentes platillos gastronómicos regionales (Méndez Moran y Luis Herrera, 2008). La interacción *U. maydis*-maíz ha llegado a ser uno de los modelos más importantes e interesantes usado para el estudio de aspectos fundamentales en biología, ya que este hongo es muy fácil

de cultivar e investigar en el laboratorio o invernadero, así como por presentar propiedades genéticas que lo hacen un importante candidato para explicar el mecanismo molecular de los hongos fitopatógenos y el sistema de defensa de diversos hospederos (Basse and Steinberg 2004; Bolker 2001).

El establecer un método de infección con este fitopatógeno en teosinte sienta las bases para posteriores estudios que permitan entender la relación que guarda el maíz con sus parientes biológicos más cercanos. *Ustilago maydis* presenta un ciclo de vida complejo, sin embargo, la infección inducida en *Zea diploperennis* por la metodología propuesta en este trabajo permitió observar por microscopia las fases del hongo dentro de la planta. Las levaduras de la cepa diploide FB-D12 que fueron inoculadas dieron lugar a la formación de filamentos delgados, micelio dicariótico en una amplia zona de la planta, protuberancias que se transformaron en teliosporas esféricas o elipsoidales, y finalmente la formación de agallas. Los tumores se presentaron principalmente en los granos, con agallas del tamaño de la mazorquilla completa, cubiertas por una membrana blanca encerrando a las células hipertrofiadas del hospedero así como al micelio del hongo. Durante la maduración la membrana se tornó de color grisáceo, y posteriormente las teliosporas fueron liberadas al ambiente al romperse la membrana de la agalla. Todo el proceso de infección observado en *Zea diploperennis* fue similar al reportado (Agrios, 2006; Christensen, 1963; De la Garza, 1974) para maíz, lo que confirma la susceptibilidad de la variedad de teosinte evaluada.

Conclusión:

Los signos característicos de la infección con *Ustilago maydis* en la variedad de teosinte *Zea diploperennis* no difieren de los reportados para el maíz. *U. maydis* presenta su ciclo de vida completo dentro de la planta confirmando que la variedad *diploperennis* es susceptible. Aunque *Zea diploperennis* no es una variedad tan cercana filogenéticamente como lo es *Zea parviglumis*, el reconocimiento con el fitopatógeno se presenta igual que en el maíz.

Se propone inducir la infección del fitopatógeno en otras variedades de teosinte para evaluar posibles diferencias en la susceptibilidad, tal como se ha encontrado en variedades híbridas de maíz.

Conflicto de interés:

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente manuscrito.

Referencias

1. Agrios, G. N. (2006). Fitopatología 2° ed. Ed. LIMUSA, México, D.F
2. Aguayo G. J.; García M. A. (2016). Tesis para obtener grado de Maestría. "Producción de huitlacoche (*Ustilago maydis*) en el estado de Aguascalientes. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias
3. Banuett, F. (1995). Genetics of *Ustilago maydis*, a fungal pathogen that induces tumors in maize. Annu. Rev. Genetics 29
4. Basse, CW and Steinberg, G. (2004). *Ustilago maydis* model system for analysis of the molecular basis of fungal pathogenicity. Molecular plant pathology 5(2): 83 - 92
5. Chávez-Tovar V. H.; Bedoya C. (2010). Teocintle: El ancestro del maíz. Claridades Agropecuarias No. 201. Pag. 32-42
6. Bolker, M (2001) *Ustilago maydis* a valuable model system for the study of fungal dimorphism and virulence. Microbiology 147: 1395-1401
7. Christensen, J. J. (1963) Corn smut caused by *Ustilago maydis* Cda. The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41p.
8. Doebley, J. (2004). Molecular evidence and the evolution of maize. Econ. Bot. 44: 6-27.
9. Doebley, J. (2004). The genetics of maize evolution. Rev. Genet, 20014. 38: 37-59 doi; 10.1146/annurev.genet.38.072902.092425
10. Estrada L. A.; López C. A.; Ramos A. H. E; Guerrero, A. A., Ruiz, H. J. (2010). Identificación de las proteínas secretadas por el hongo *Ustilago maydis*. Cultivado en condiciones in vitro. Nova Scientia, 2, (4): 104-130
11. Guevara-Lara, F., Valverde, M.E. and Paredes-López, O. (2000). Is pathogenicity of *Ustilago maydis* (huitlacoche) strains on maize related to in vitro production of 49 indole-3-acetic acid. World Journal of Microbiology and Biotechnology 16:481-490
12. Kahmann, R. (2002) Fungus drains resistance. Max Plant Research, 4: 32-39
13. Klosterman, S.J. (2007). Genetics of morphogenesis and pathogenic development of *Ustilago maydis*. Advances in Genetics 57, 1-24.
14. Luna, C.G. (2015). Tesis de Licenciatura. Estudio de la infectividad de huitlacoche (*Ustilago maydis corda* 1842) en dos variedades de maíces criollos de Oaxaca. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca
15. López A., G.F. (1988). Factores que determinan el desarrollo de *Ustilago maydis* (D. C.) Cda; agente causal del huitlacoche del maíz. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Fitopatología. Montecillos, México
16. Martínez E. A., Ruiz Herrera J. (2000). Las vías de transducción de señales en la patogénesis y la morfogénesis de hongos: Los casos de *U. maydis* y *Magnaporthe grisea*. Revista Mexicana de Fitopatología, 18, 54-60

17. Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman M, Sanchez J, Buckler E and Doebley J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 6080-6084
18. Méndez M.; Herrera L. (2008). Estudio de genes diferenciales durante el proceso patogénico de *Ustilago maydis* en *Arabidopsis thaliana* un huésped no natural. Avance en la investigación científica en el CUCBA. EN XIX Semana Nacional de Investigación Científica. Zapopan, Jalisco, México. p 407
19. Sánchez G. J.; Kato Y. *et al*, (1998) Distribución y caracterización del teocintle. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Sagar. Libro Técnico Núm. 2
20. Trezzi, C. R. (2000). Sobrevivencia de stenocarpella *U. maydis* E stenocarpella macrospora em Restos Culturales de Milho. Brasil: Vicoso Minas Gerai.
21. Valdez, M. M.; Valverde M. E. y Paredes L. O. (2009) Procedimiento tecnológico para la producción masiva de huitlacoche. CINVESTAV – Irapuato. Sinnco pp. 10-37.
22. Valverde, M. E.; Paredes L. O. (1993). Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.). *Food Biotechnology* 7 (3): 207–219.
23. Venegas P. E (1995). Procedimientos tecnológicos para la producción de huitlacoche (*Ustilago maydis*) efecto de la cepa y materiales genéticos de maíz sobre la calidad. Tesis maestría. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Unidad Irapuato.



Original

Artículo español

Revisión y análisis de la influencia del entorno afectivo y los motivos de práctica de actividad física actual en adolescentes.

Review and analysis of the influence of the emotional environment and reasons for current physical activity in adolescents.

Laura Gómez Escribano¹, Antonio R. Escribá Fernández-Marcote¹, Arancha Gálvez Casas¹, Pedro Tárraga López² y Loreto Tárraga Marcos².

¹Departamento de Educación Física. Facultad de Educación. Universidad de Murcia. España

²Departamento de Ciencias Biomedicas. Facultad de Medicina. Universidad de Castilla la Mancha. España

Resumen

Los problemas de salud y sedentarismo presentes en la actualidad en la población adolescente, debido a la ausencia de práctica de actividad física son cada vez más patentes. El propósito del presente estudio es conocer, en el periodo de adolescencia, los motivos de práctica de actividad física y la influencia social existente en este grupo de edad. Para ello se ha realizado una revisión bibliográfica a través de diferentes bases de datos. En cuanto a los resultados y conclusiones, se aprecia que el principal motivo de práctica de actividad física es la diversión y que la influencia de los iguales y la familia es importante para dicha práctica en adolescentes.

Palabras clave

actividad física; adolescents; entorno afectivo; motivos de práctica.

Abstract

Current health issues related to a sedentary lifestyle, which are present in teenage populations due to a lack of physical activity, are becoming increasingly serious. The purpose of this study is to understand the reasons to practice of physical activity and the social influence in teenagers.

In order to do so, a bibliographical review has been carried out using several data bases. The results and conclusions that have been reached indicate that the main reason to practice physical activity is fun and also that the influence of peers and family members determines the amount and continuity of physical activity in teenagers.

KEYWORDS

physical activity; teenagers; affective environment; practice reasons.

INTRODUCCIÓN:

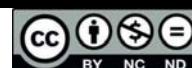
En el siglo XXI, los problemas de salud derivados de la falta de actividad física ocupan un lugar preferente tanto en los países desarrollados como en aquellos que están en vías de desarrollo¹. Este problema se agudiza especialmente en adolescentes, que en las dos últimas décadas han sufrido un deterioro progresivo de su salud atribuido en gran medida a un estilo de vida sedentario^{1,2}. Diferentes estudios revelan que los malos hábitos alimenticios que provocan graves problemas de salud en adolescentes creando problemas de obesidad y otras patologías que aparecen en su madurez^{3,4,5}.

En la actualidad la evidencia científica nos pone de manifiesto un elevado sedentarismo infanto-juvenil asociado a una relación bien establecida entre un estilo de vida activo, la salud y la calidad de vida. Estos factores constituyen el punto de inicio en el interés por conocer y comprender qué variables influyen en el mantenimiento por parte de los individuos de estilos de vida activos^{2,6,7}. A la hora de considerar los distintos elementos que influyen en la práctica de

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: pitarraga@jonnpr.com (Pedro Juan Tarraga López).

Recibido el 17 de noviembre de 2016; aceptado el 24 de noviembre de 2016.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia:
Articles published in this journal are licensed with a:
Creative Commons Attribution 4.0.
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos.

actividad física de los niños, nos centraremos, no solo las actitudes de estos hacia la práctica o el conocimiento que tengan sobre los beneficios de la misma sobre la salud, sino también debemos considerar todas aquellas variables que puedan producir un cambio cualitativo en las conductas de los escolares hacia la práctica deportiva^{8,9}.

En cuanto al nivel de participación de los adolescentes, se ha observado que a pesar de la contrastada importancia de la actividad física para la salud, y la variedad de actividades organizadas deportivas disponibles tanto en el ámbito escolar como comunitario, los jóvenes, y especialmente las chicas, tienden a reducir su implicación en actividades físicas y deportivas conforme avanza la adolescencia¹⁰.

En un esfuerzo por resolver el problema de la participación y adherencia a la actividad física, se han utilizado diferentes modelos teóricos que han guiado la investigación, se ha intentado dar explicación a los posibles factores que pueden influenciar la conducta "hacer práctica de actividad física" en población joven¹¹. Uno de los modelos teóricos más utilizados, es el modelo social cognitivo¹¹.

Desde este modelo, la actividad física esta influenciada de forma determinante por factores de tipo interpersonal (influencia de los otros significativos como padres, madres, hermanos, amigos, profesor y médico) y factores de tipo ambiental (relacionados con los ambientes de la casa o del colegio).

En relación a lo anterior, se ha señalado que los factores sociales juegan un papel importante en la implicación del adolescente en la realización de actividad física y, en este sentido, se observa que el modelado de otros significativos, entre los que han sido destacados la familia y el grupo de iguales, ejerce también una influencia fundamental¹⁰. Por otro lado, diversos estudios ya han analizado los motivos que alientan a estos jóvenes, pertenecientes tanto al ámbito escolar como al universitario a practicar actividad físico-deportiva en su tiempo libre¹². Algunos de ellos, mediante la creación de sofisticadas herramientas con el fin de disminuir los elevados índices de abandono en esta etapa adolescente¹³.

Por otro lado, género y edad han mostrado ser dos factores relevantes en la frecuencia de realización de actividad física, al tiempo que se ha observado que la autoeficacia y la competencia percibida, así como el disfrute asociado a la práctica deportiva son factores psicológicos de gran relevancia¹⁰.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente los objetivos del presente trabajo son describir los motivos de práctica físico-deportiva y analizar la influencia del entorno afectivo sobre adolescentes.

MATERIAL Y MÉTODO:

Diseño y participantes

El presente estudio que se ha llevado a cabo ha sido de tipo descriptivo mediante la revisión de artículos publicados en diferentes fuentes bibliográficas (WEB OF SCIENCE, PUBMED, DIALNET Y GOOGLE ACADÉMICO). Siguiendo los objetivos propuestos, se ha utilizado una serie de palabras claves tales como deporte, actividad física, clases de Educación Física, escolares y adolescentes, entorno afectivo y motivos de práctica.

Durante la revisión bibliográfica, de los 420 artículos encontrados, 305 han sido descartados por el título, 53 por el resumen, 12 por no poder acceder al archivo de forma gratuita y 31 por el contenido, fechas de publicación y edad de los sujetos. Además de esto, destacar que las publicaciones de dichos artículos, comprenden desde el año 2012 hasta 2016, tratándose así de artículos muy recientes. De esta forma, para este trabajo se han utilizado un total de 19 artículos procedentes de diferentes bases de datos.

Con la finalidad de optimizar la calidad metodológica también se ha utilizado la escala Jadad para mejorar las propiedades psicométricas (validez y fiabilidad) y obtener mayor rigor científico en la investigación.

RESULTADOS:

La tabla 1 muestra los motivos de práctica físico-deportiva en adolescentes entre 13 y 14 años apreciándose así los resultados y conclusiones de los mismos. Asimismo se presentan otros aspectos como autor y año, muestra y lugar e instrumento utilizado en el estudio llevado a cabo. Se observan diferencias significativas según el género en los motivos de práctica de actividad física, existiendo una mayor prevalencia en los chicos. Entre ellos destaca estar saludable y en forma, porque es bueno hacer ejercicio, por mantener la línea y tener buen aspecto, por diversión y ocupar el tiempo de ocio y por estar con los amigos y hacer cosas juntos. En relación a esto, tanto chicos como chicas, señalan como los motivos más relevantes los aspectos relacionados con la salud y con la potenciación de las relaciones sociales.

La tabla 2 muestra los resultados y conclusiones obtenidos en relación a los motivos de práctica de actividad física en adolescentes entre 13 y 18 años. Además también aparecen otros datos relevantes tales como autor y año, muestra y lugar e instrumento utilizado en el estudio. Se aprecian diferencias significativas según el género en cuanto a los motivos de práctica de actividad física. Para los chicos los principales motivos son la diversión, seguido de hacer ejercicio y estar con los amigos. Para las chicas la diversión es el principal motivo, y le sigue hacer ejercicio y el gusto por la práctica.

La tabla 3 muestra los resultados y conclusiones de los motivos de práctica de actividad física de los adolescentes chilenos entre 13 y 16 años. Además de esto, también se aprecia el autor y año, la muestra y lugar así como el instrumento utilizado en el estudio. El principal motivo de práctica durante el tiempo libre es la diversión, además de otros como por adquirir buena forma física y estar con los amigos.

Tabla 1. Motivos de práctica de actividad física en adolescentes entre 13 y 14 años

Autor y año	Muestra y lugar	Instrumento utilizado	Resultados	Conclusiones
Granda, Alemany, Montilla, Barbero, Mingorance y Rojas (2013).	548 (267 chicos y 281 chicas). 3 centros públicos y 1 concertado de Melilla.	Cuestionario de Hábitos de Actividad Física. Validez (análisis factorial exploratorio) Fiabilidad (Alfa de Cronbach) es de 0.91. Válido y fiable.	Motivos de práctica de AF y género: diferencias significativas mayores en chicos: -Estar saludable y en forma (P=0.001), es bueno hacer ejercicio (P=0.041), mantener la línea y tener buen aspecto (P=0.015), diversión y ocupar el tiempo de ocio (P=0.000), y quedar con los amigos y hacer cosas juntos (P=0.000).	Los principales motivos de práctica son los aspectos relacionados con la salud y con la potenciación de las relaciones sociales.

Nota. AF Física.= Actividad

Tabla 2. Motivos de práctica de actividad física en adolescentes entre 13 y 18 años

Autor y año	Muestra y lugar	Instrumento utilizado	Resultados	Conclusiones
Martínez et al. (2012).	2859 (1357 chicos y 1502 chicas). Centros públicos y privados de Granada, Madrid, Murcia, Santander y Zaragoza.	Encuesta sobre comportamientos, actitudes y valores sobre actividad física y deportiva del Grupo AVENA. Válido y fiable.	Motivos de práctica de AF: P<0.001 (género): -Chicos: diversión, seguido de hacer ejercicio y estar con los amigos. -Chicas: diversión, seguido de hacer ejercicio y el gusto por la práctica.	Motivos de práctica en chicos y chicas: diversión, hacer ejercicio y estar con los amigos y el gusto por la práctica respectivamente.

Nota. AVENA= Alimentación y Valoración del Estado Nutricional de los Adolescentes Españoles. AF= Actividad Física.

Tabla 3. Motivos de práctica de actividad física en adolescentes entre 13 y 16 años

Autor y año	Muestra y lugar	Instrumento utilizado	Resultados	Conclusiones
Vergara, Elzel, Ramírez-Campillo, Castro y Cachón (2015).	218 (113 chicos y 105 chicas). Escuela Río Bueno, escuela Pampa Ríos, Colegio Santa Cruz y Colegio Cardenal Raúl Silva Henríquez de Chile.	Cuestionario sobre actitudes y opiniones de carácter general, así como información del estilo de vida. Validado en cuanto a contenido y fiabilidad estadística. Fiabilidad (Alfa de Cronbach) 0.80. Válido y fiable.	Motivos de práctica de AF: -31.2% por diversión. -23.4% por adquirir buena forma física. -11.9% por estar con los amigos.	La diversión es el principal motivo de práctica de AF.

Nota. AF= Actividad Física.

En la tabla 4 se muestra la influencia que tiene el entorno afectivo en los adolescentes entre 12 y 18 años en la práctica de actividad física. Se aprecia el autor y año, la muestra y lugar, el instrumento utilizado y los resultados y conclusiones del estudio en cuestión. Se puede observar la importancia que tiene influencia de los padres en la práctica de actividad física de sus hijos. De esta forma, existe una asociación positiva de manera que si ambos padres son activos físicamente, sus hijos también lo serán durante su tiempo libre y viceversa. También se puede observar, como el hecho de tener un solo progenitor activo es mejor que tener dos padres poco activos o sedentarios.

En la tabla 5 se muestra la influencia que tiene el entorno afectivo sobre los adolescentes en la práctica de actividad física. Para ello se indica el autor y año, la muestra y lugar, el instrumento utilizado, así como los resultados y conclusiones del estudio. Se aprecian diferencias significativas según el género en la influencia del apoyo social (dar información o ayuda a realizar actividad física). De esta forma, el padre y los amigos influyen de forma positiva en la práctica de actividad física en los chicos. Por el contrario, la madre y el profesor de Educación Física, influyen positivamente sobre las chicas hacia la práctica de actividad física. Por otro lado, también se encuentran diferencias significativas según el género en la influencia de los agentes sociales como modelo (hacen actividad física y la hacen con el alumno/a, hijo/a, amigo/a). En este caso, la madre y el profesor de Educación Física influyen de manera positiva en las chicas, y son el padre y los amigos quienes influyen en la práctica de actividad física en los chicos. En relación a la influencia social (dar ánimos o importancia a la actividad física) se hallan diferencias significativas en función del género. El padre y los amigos son los que influyen hacia la práctica de actividad física en chicos, y la madre y el profesor de Educación Física quienes influyen sobre las chicas.

Tabla 4. Influencia del entorno afectivo en la práctica de actividad física en adolescentes entre 12 y 18 años.

Autor y año	Muestra y lugar	Instrumento utilizado	Resultados	Conclusiones
Marques, Martins, Sarmiento, Diniz y Carreiro da Costa (2014).	1037 (488 chicos y 549 chicas). 6 escuelas públicas de Lisboa.	Leisure Time Physical Activity (LTPA). Validado. Fiabilidad (Test-retest): 0.90 a 0.95. Válido y fiable.	Los adolescentes que tienen ambos padres inactivos se caracterizan por ausencia de AF. Los adolescentes que tienen ambos padres inactivos se asocia de forma positiva con la práctica de AF de estos durante su tiempo libre. Tener un solo padre activo es mejor a que ambos sean menos activos o sedentarios.	La influencia de los padres es crucial para que los hijos practiquen AF durante su tiempo libre. Que ambos padres sean activos se asocia positivamente con que sus hijos también lo sean durante su tiempo libre.

Nota. AF= Actividad Física.

Tabla 5. Influencia del entorno afectivo en la práctica de actividad física en adolescentes entre 12 y 16 años

Autor y año	Muestra y lugar	Instrumento utilizado	Resultados	Conclusiones
Serra et al. (2014).	831 (380 chicos y 451 chicas) Todos los institutos públicos, privados y concertados de Huesca.	Cuestionario de influencias sobre la Actividad Física y la Salud. Fiabilidad (Alfa de Cronbach) entre 0.60 y 0.90. Adaptación del cuestionario "Four by one-day Physical Activity Questionnaire". Validado tanto en población inglesa como en española. Fiabilidad de 0.75. Válido y fiable.	Influencia del apoyo social (dar información, ayuda a realizar AF); influencia de los agentes sociales como modelo (hacen AF y la hacen con el alumno/a, hijo/a, amigo/a); influencia social (dar ánimos, importancia a la AF): $P < 0.05$ (género): -El padre y los amigos influyen positivamente en la práctica de AF sobre los chicos. -La madre y el profesor de EF influyen positivamente hacia la práctica de AF sobre las chicas.	El apoyo e influencia social parece demostrar la importancia que tienen los referentes de género en la influencia sobre la práctica de AF en la población adolescente.

Nota. AF= Actividad Física. EF= Educación Física.

DISCUSIÓN:

En relación a los motivos de práctica de actividad física, y siguiendo los principales resultados del presente trabajo, aparecen coincidencias en los diferentes estudios se evidencia que los chicos practican por diversión, por hacer ejercicio y por estar con los amigos, y las chicas también por diversión, por hacer ejercicio y por el gusto por la práctica¹³. En esta línea, coincide con este autor, siendo la diversión también en este estudio el principal motivo de práctica¹⁴. En otra investigación los motivos de práctica más relevantes son los aspectos relacionados con la salud (estar saludable y en forma, es bueno hacer ejercicio, y mantener la línea y tener buen aspecto) y con la potenciación de las relaciones sociales (por diversión y ocupar el tiempo de ocio, quedar con los amigos y hacer cosas juntos)¹⁵.

Por otra parte, en relación a la importancia de la influencia social en la realización de actividad física en adolescentes se distinguen varios estudios^{9,11,13}. En el otra investigación el apoyo e influencia social hacia los adolescentes es fundamental en la práctica de actividad física. Este autor afirma que son el padre y los amigos las figuras que influyen positivamente sobre los chicos a realizar actividad físico-deportiva¹¹. En cambio, en las chicas, son la madre y el profesor de Educación Física quienes influyen de manera más relevante, para que estas practiquen actividad física. Otro estudio, defiende la importancia que tiene la influencia de los padres sobre los hijos, para que estos realicen actividad física. En su estudio, afirma que si ambos padres son inactivos, los hijos se caracterizan por no practicar ejercicio o actividad física. Si ambos padres son activos, es muy probable que sus hijos también lo sean y practiquen actividad física durante su tiempo libre. Por último, es mejor tener un solo padre activo, a que ambos sean menos activos o sedentarios¹⁶.

Sería interesante que se desarrollaran trabajos similares con cierta frecuencia, con el fin de comprobar si existen o no cambios en la práctica de actividad físico-deportiva en adolescentes, dentro del ámbito nacional e internacional, para mejorar el estudio y como una futura prospectiva de investigación.

A modo de conclusión, La práctica de la actividad física es escasa en los niños en etapa escolar siendo que el principal motivo para su realización, tanto en chicos como en chicas la diversión. De forma secundaria, hay otros motivos relacionados con la salud (estar saludable y en forma y por hacer ejercicio) y con la potenciación de relaciones sociales (por estar con los amigos y hacer cosas juntos). Por otra parte, la familia puede influir de forma importante sobre la práctica de actividad física en escolares y adolescentes. Si los padres son sedentarios los hijos pueden tener una

actividad física menor que si no lo son. Estos resultados pueden ayudar a fomentar la práctica de actividad física y mejorar el estilo de vida de los adolescentes, reduciendo así los problemas de salud y de sedentarismo que hay en la actualidad en este grupo de población.

La escala de Jadad, aunque ha sido desarrollada y validada para evaluar la calidad de los estudios realizados sobre el dolor, también ha sido utilizada extensivamente en otras áreas clínicas¹⁷ Actualmente, innumerables ensayos clínicos incluyen los ítems de la escala de Jadad en su metodología a fin de realizar un estudio con buena calidad metodológica. En este sentido, Herbison y otros¹⁸ concluyeron que la escala de Jadad puede no ser sensible o suficiente para distinguir entre diferentes niveles de calidad. Por lo tanto, la utilización de la escala de Jadad y su validez debe ser reevaluada para diferentes áreas de investigación.

En esta revisión se encuentran un 100% de los artículos que si estaban randomizados, El 100% describen la secuencia de randomización (aleatorización), el 100% de los estudios seleccionados se describe como Doble Ciego y además se utiliza un método de cegamiento adecuado y con rigor científico. Con respecto a la descripción de las pérdidas en los estudios seleccionados sólo el 70% hace referencia explícita a las mismas.

Se concluye que aplicando la escala Jadad en esta revisión científica se obtiene una puntuación ECA de 4 puntos y esto nos indica una calidad metodológica aceptable para este tipo de estudio.

Referencias

1. Nuviala, A., Tamayo, J. A., & Nuviala, R. Calidad percibida del deporte escolar como predictor del abandono deportivo en adolescentes. *Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y del Deporte* 2012; 12(47): 389-40.
2. García, P. L. R., Marcos, L. T., Guillamón, A. R., García-Cantó, E., Pérez-Soto, J. J., Casas, A. G., & Lopez, Physical Fitness Level and Its Relationship with Self-Concept in School Children. *Psychology* 2014; 5:2009-2017. (ref 2)
3. M^a Loreto Tárraga Marcos, Nuria Rosich, Josefa María Panisello Royo, Aránzazu Gálvez Casas, Juan P. Serrano Selva, José Antonio Rodríguez-Montes y Pedro J. Tárraga López. Eficacia de las estrategias de motivación en el tratamiento del sobrepeso y obesidad. *Nutric Hosp* 2014;30(2):741-748
4. Fernández LLL, Dinamarca BL, Bercovich JK, del Río FV. Evaluación de una intervención educativa para la prevención de la obesidad infantil en escuelas básicas de Chile. *Nutr Hosp* 2013;28:1156-1164
5. Mireia Orgilés, Isabel Sanz, José Antonio Piqueras, José Pedro Espada. Diferencias. En los hábitos de alimentación y ejercicio físico en una muestra de preadolescentes en función de su categoría ponderal: *Nutr Hosp* 2014; 30(2):306-313.
6. García, E., Rodríguez, P.L., Pérez, J.J., Rosa, A., & López, F. Autopercepción de competencia motriz y su relación con la práctica físico-deportiva en escolares de la Región de Murcia (España). *REXE: Revista de estudios y experiencias en educación*, 14(27), 49-61.
7. Gálvez, A., Rodríguez-García, P.L., Tárraga, L., Rosa, A., García-Cantó, E., Pérez-Soto, J.J., y Tárraga, P. Relación entre estatus corporal y autoconcepto en escolares. *Nut Nutr Hosp*. 2015;31(2):723-729
8. García, E., Rodríguez, P.L., Pérez, J.J., Rosa, A., & López, F. (2015). Autopercepción de competencia motriz y su relación con la práctica físico-deportiva en escolares de la Región de Murcia (España). *REXE: Revista de estudios y experiencias en educación*, 14(27), 49-61.
9. Gálvez, A., Rodríguez-García, P.L., Tárraga, L., Rosa, A., García-Cantó, E., Pérez-Soto, J.J., y Tárraga, P. Estado nutricional y calidad de vida relacionada con la salud en escolares del sureste español. *Nutr Hosp*. 2015;31(2):730-736
10. García-Moya, I., Moreno C., Rivera, F., Ramos, P., y Jiménez-Iglesias, A. Iguales, familia y participación en actividades deportivas organizadas durante la adolescencia. *Revista de Psicología del Deporte* 2012; 21(1), 153-158.
11. Serra, J. R., Zaragoza, J., & Generelo, E. Influencias de "otros significativos" para la práctica de actividad física en adolescentes. *Revista internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física del Deporte* 2014, 14(56), 735-753.
12. Martínez, A. C., Chillón, P., Martín-Matillas, M., Pérez, I., Castillo, R., Zapatera, B., Vicente-Rodríguez, G., Casajús, J.A., Álvarez-Granda, L., Romero, C., Tercedor, P. & Delgado-Fernández, M. Motivos de práctica de actividad físico-deportiva en adolescentes españoles: estudio AVENA. *Revista de currículum y formación del profesorado* 2012; 16(1), 391-398.
13. Martínez, A. C., Chillón, P., Martín-Matillas, M., Pérez, I., Castillo, R., Zapatera, B., Vicente-Rodríguez, G., Casajús, J.A., Álvarez-Granda, L., Romero, C., Tercedor, P. & Delgado-Fernández, M. Motivos de práctica de actividad físico-deportiva en adolescentes españoles: estudio AVENA. *Revista de currículum y formación del profesorado*, 2012; 16(1), 391-398.
14. Vergara, M., Elzel, L., Ramírez-Campillo, R., Castro-López, R., & Cachón, J. (2015). Actividad física en estudiantes de octavo curso de educación básica de la comuna de río bueno (Chile). *Journal of Sport and Health Research*, 7(1), 43-54.
15. Granda, J., Alemany, I., Montilla, J.M., Barbero, J. C., Mingorance, Á., & Rojas, G. Frecuencia de práctica y motivos de participación en actividades físicas en función del género y la edad de escolares de 13-14 años de Melilla. *Publicaciones*, 2013; 43, 79-97.

16. Marques, A., Martins, J., Sarmiento, H., Diniz, J., & Carreiro da Costa, F. (). Adolescents' physical activity profile according to parental physical activity participation. *Journal of Human Sport and Exercise*; 2014: 9(1), 81-90.
17. Clark HD, Wells GA, Huet C, McAlister FA, Salmi LR, Fergusson D, et al. Assessing the quality of randomized trials: Reliability of the Jadad scale. *Contr Clin Trials*. 1999;20(5):448-52.
18. Herbison P, Hay-Smith J, Gillespie WJ. Adjustment of meta-analyses on the basis of quality scores should be abandoned. *J Clin Epidemiol*. 2006;59(12):1249-56



Caso Clínico

Artículo español

Diagnóstico del defecto de Mioadenilato Deaminasa: test de ejercicio en Isquemia, biopsia muscular y secuenciación masiva del exoma.

Mioadenilate Deaminase defect diagnosis: Ischemic exercise test, muscular biopsy and whole exome sequency.

Juan José Nava Mateos¹, Raquel Besse Díaz², Vicente Gómez del Olmo², Olivia Sánchez Sánchez², Diego Ramón Cebrián Novella², María Soledad Añón Roig¹, Marta Rosas Cancio Suárez²

¹Servicio de Medicina Interna, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia. España.

²Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Ramón y Cajal. España.

Resumen

El déficit de mioadenilato deaminasa (MADA) es una de las causas de miopatía metabólica más frecuentes. Los pacientes afectados por este déficit enzimático pueden permanecer asintomáticos o bien presentar diferentes grados de afectación muscular, desde la fatigabilidad precoz, hasta una miopatía grave. Para su diagnóstico es fundamental el test de ejercicio en isquemia (TEI), en el que se aprecia elevación del lactato, pero no del amonio. El defecto de MADA puede ser primario o secundario a otra enfermedad muscular. La confirmación ha de realizarse con estudio genético del gen AMPD1. Hasta la fecha, la técnica utilizada es la secuenciación de Sanger o la detección de mutaciones más prevalentes. Teniendo en cuenta la dificultad de diferenciar un defecto de MADA primario o secundario, la secuenciación completa del exoma puede ser de gran ayuda.

Como ejemplo ilustrativo presentamos el caso de un varón de 28 años con fatigabilidad y elevación de la CPK. La sospecha diagnóstica de déficit (MADA) se apoyó principalmente en el test de ejercicio en isquemia y ausencia de datos sugestivos de otras miopatías. Posteriormente se confirmó el diagnóstico con análisis genético mediante secuenciación masiva del exoma, sin necesidad de biopsia muscular.

Palabras clave

Mioadenilato deaminasa; test de ejercicio en isquemia; amonio; lactato; biopsia muscular; secuenciación masiva del axoma.

Abstract

Mioadenilate defect is a frequent cause of metabolic myopathy. We can find a variety of clinic features. Patients can be asymptomatic or they present different degrees of muscular impairment, from early fatigability to severe miophaty. Miodanilate Deaminase diagnosis requires a pathological anaerobic exercise test, with no rise of ammonium and rise of lactate. This fact should make us think about this defect. Mioadnilate Deaminase defect can be originated by other muscular diseases. Diagnosis confirmation needs genetic studies. Most often Sanger sequence and prevalent mutations are the genetic technics used. Probably, next generation sequence (NGS) could help us to discern between primary and secondary defects of enzyme.

We report the caso of 28 years-old man with early fatigability and dystrophy sign who was diagnosed of Mioadenilate Deaminase. We supported the diagnosis with anaerobic exercise test. Later, we confirmed the diagnosis with genetic analyse using next generation sequence.

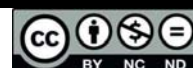
KEYWORDS

Mioadenilate deaminase; ischaemic exercise test; ammonium; lactate; muscle biopsy; whole exom sequence.

* Autor para correspondencia.

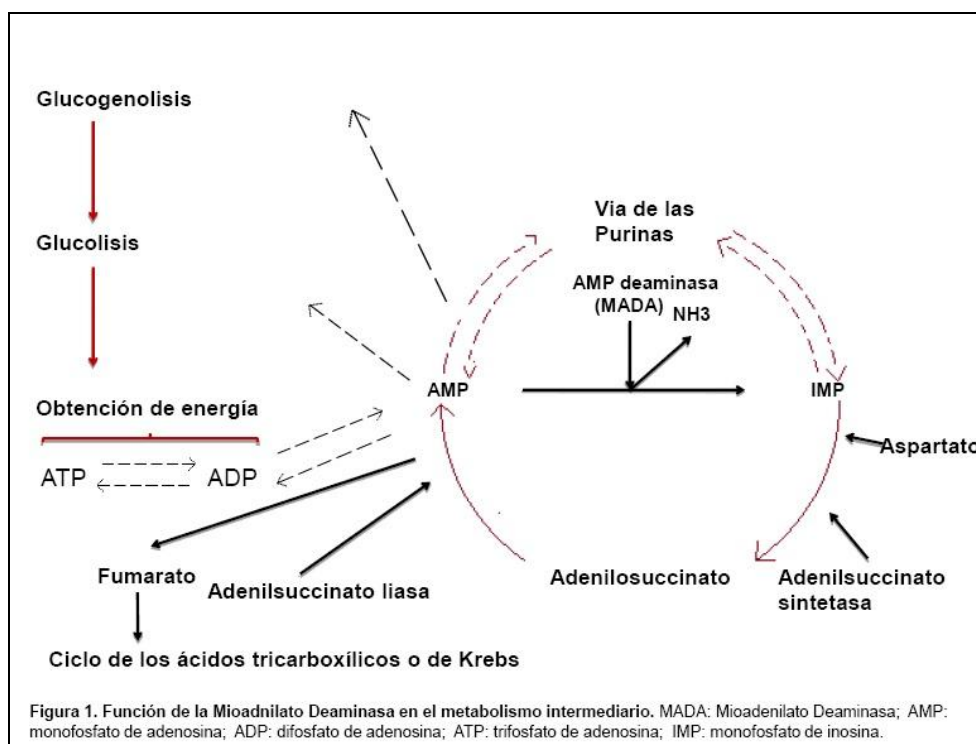
Correo electrónico: navamateos@gmail.com (Juan José Nava Mateos).

Recibido el 23 de octubre de 2016; aceptado el 31 de octubre de 2016.



Introducción:

El déficit de MADA (ORPHA 45) se estima como una de las causas más frecuentes de miopatía de origen metabólico, aunque es mucho más frecuente el defecto secundario a otra miopatía. La prevalencia se desconoce. Su herencia es autosómica recesiva. La MADA esta codificada por el gen *AMPD1* (OMIM 615511), localizado en el cromosoma Cr1p13.2. Dicha enzima cataliza^{1, 2} la formación de monofosfato de inosina (IMP) y amonio a partir de monofosfato de adenosina (AMP); esta reacción contribuye a la formación de trifosfato de adenosina (ATP) a partir de difosfato de adenosina (ADP) (Figura 1).



La generación de ATP es necesaria para la contracción muscular, por lo que un déficit de esta enzima condiciona un defecto en la generación de energía. La prevalencia es desconocida según el informe del portal orphanet de enfermedades raras.

La expresión clínica de la enfermedad es muy variable. Se estima que el 1% de la población caucásica presenta mutaciones en el gen de la MADA, sin necesariamente desarrollar una enfermedad muscular por ello. En los casos en los que el defecto de MADA es primario, la expresión fenotípica es altamente variable. Podría decirse que el hallazgo más frecuente entre aquellos que presentan miopatía es la elevación de la CPK, con un amplio intervalo de valores. En cuanto a la clínica, existen individuos que no presentan ningún tipo de manifestación y otros con diferente grado de afectación muscular, desde la fatigabilidad precoz, calambres musculares e intolerancia al ejercicio hasta debilidad muscular progresiva^{3, 4}.

En la mayor parte de pacientes el defecto de MADA es secundario a otras miopatías. Se puede deducir por tanto, que su diagnóstico es por descarte de otras miopatías y que exclusivamente con una demostración de defecto de actividad como se aprecia en el TEI, es insuficiente para aseverar que la enfermedad muscular se debe a un defecto de MADA exclusivamente^{5, 6, 7}.

En todas las miopatías la anamnesis es fundamental. Es importante valorar el tratamiento con fármacos que causan elevación de la CPK, siendo el principal protagonista las estatinas; descartar la exposición a tóxicos, interrogar sobre la presencia de síntomas constitucionales, fiebre.

De forma dirigida hay que interrogar al paciente por la tolerancia al ejercicio y el tipo de ejercicio tolerado, síntomas de inflamación muscular, coluria, mialgias tras ejercicio, antecedentes de traumatismo reciente y el patrón diario en el caso de que exista debilidad muscular. Tan importante es la anamnesis que en algunos casos puede orientarnos a patologías concretas, como es el fenómeno de segundo aliento en la Enfermedad de Mc Ardle (fatiga muscular al inicio del ejercicio que posteriormente desaparece y permite continuar con éste).

No hay que olvidar que las inyecciones intramusculares pueden elevar la CPK. Una vez realizada la historia clínica solicitaremos análisis de sangre para valorar función tiroidea, electrolitos, autoinmunidad. El electromiograma nos ayudará a confirmar la afectación muscular y descartar una causa neurógena de elevación de la CPK.

Descartados los traumatismos, el ejercicio excesivo, la exposición a tóxicos (alcohol, cocaína), el hipotirodismo, las alteraciones electrolíticas, las enfermedades autoinmunes (polimiositis, dermatomiositis) y causas neurógenas (distrofias con miotonía, parálisis periódicas) de elevación de la CPK hemos de realizar el test de ejercicio en isquemia (TEI)^{5, 6, 7} o test de ejercicio en condiciones anaerobias. Dicho test explora el metabolismo muscular en condiciones de anaerobiosis, determinando las concentraciones de amonio y lactato previas al test y posteriormente en diferentes

tiempos (por ejemplo en el minuto 0, 1, 3, 5 y 10). El test normal presenta ascenso de lactato y de amonio tras la realización de ejercicio en anaerobiosis o isquemia; en el caso de presentar un defecto en la MADA, elevará el lactato, sin elevarse el amonio. Este hallazgo es el que sugiere un defecto de MADA^{5,7}.

Es en este momento del proceso diagnóstico cuando tendremos en cuenta que podemos encontrar defecto de la MADA secundarios a otras patologías musculares, es decir, no debido a un defecto primario de la MADA, sino debido a otra enfermedad que causa daño muscular y por tanto secundariamente a este daño pierde la función en mayor o menor medida de la MADA⁸.

En este estadio del diagnóstico adquiere importancia el análisis de acilcarnitinas (alteradas en defectos de la beta oxidación mitocondrial y transporte de la carnitina) y la realización de la biopsia muscular para valorar la presencia de lípidos, análisis de la cadena respiratoria mitocondrial y realización de técnicas inmunohistoquímicas para proteínas estructurales musculares.

Objetivos:

Plantear una alternativa de diagnóstico a la biopsia muscular en las miopatías, proponiendo como primer paso el análisis fenotípico exhaustivo, en el que se incluye como herramienta principal el test de ejercicio en isquemia. En el final del proceso, para llegar al diagnóstico definitivo, se propone el uso de la secuenciación masiva del exoma, ya que en el caso descrito y en un gran número de miopatías, existen numerosos genes que pueden ser los causantes de la miopatía.

Aumentar el índice de sospecha del defecto de MADA, siendo fundamental para ello la realización e interpretación del test de ejercicio en isquemia.

Material y métodos:

Describimos el caso de un varón de 28 años que es valorado en la consulta de Medicina Interna en relación a elevación persistente de la CPK, con dificultad para pasar de la sedestación a la bipedestación, precisando apoyo manual. No recibe tratamiento farmacológico ni refiere exposición a tóxicos. El paciente presenta cierta disminución de la capacidad de ejercicio con respecto a sujetos de su edad. No refiere cambios inflamatorios en grupos musculares ni pérdida de masa muscular. No ha presentado coluria, mialgias ni calambres musculares. No presenta síntomas constitucionales ni fiebre. No fenómeno de segundo aliento. No ha presentado dolor torácico ni disnea, así como disminución de la agudeza visual o auditiva.

En la exploración física llama la atención un temblor fino distal de reposo que desaparece con los movimientos y la necesidad de apoyarse en una superficie para pasar de la sedestación a la bipedestación. La maniobra de Gowers es positiva (apoyo de los brazos en las piernas para poder pasar de la sedestación a la bipedestación). La fuerza está conservada, así como la sensibilidad en todas sus modalidades. Los reflejos osteotendinosos son simétricos, no exaltados, no se evidencia la presencia de fasciculaciones ni clonus. No presenta signos de atrofia en la musculatura proximal ni distal. La exploración cardiopulmonar es normal, así como la abdominal.

En la bioquímica sanguínea destacaba un valor de CPK de 5257 UI/l, LDH: 434 UI/l, GOT: 90 UI/l, GPT: 90 UI/l.

El electromiograma evidenciaba un patrón miopático crónico con principal afectación en cuádriceps, sin datos de denervación ni reinervación, y una velocidad de conducción normal.

Teniendo en cuenta estos resultados se realizó un TEI^{5,6} en el que se evidenciaba ascenso de lactato, pero no de amonio.

Posteriormente se determinaron concentraciones de acilcarnitinas con objeto de descartar patología del catabolismo lipídico, con resultado normal.

Teniendo en cuenta los hallazgos anteriormente descritos, se realizó la secuenciación masiva del exoma, ya que las miopatías que se diagnostican con los métodos anteriores están descartadas y el resto son de origen genético. Se decidió no realizar biopsia muscular, ya que la secuenciación a priori revelaría el gen implicado y por tanto para el diagnóstico no hace imprescindible la biopsia.

La secuenciación del exoma se realizó en DNA extraído de leucocitos de sangre periférica (MagNa Pure, Roche), Panel Trusight NextSeq 500 de Illumina, análisis bioinformático DNAnexus y VariantStudy. Confirmación por secuenciación de Sanger (BigDye v3.1 Applied Biosystems). Análisis bioinformático de mutaciones (Alamut Visual Interactive Biosoftware Mutalyzer).

La búsqueda bibliográfica se realizó en Pubmed, embase, scielo. Se realizó una revisión de las bases de datos más relevantes, usando los términos de búsqueda más apropiados a cada una para recuperar el mayor número de artículos sobre el tema.

Resultados:

Tras este estudio se decide realizar secuenciación masiva del exoma, situándose la sospecha entre un defecto primario de MADA y un defecto de esta enzima secundario a otra patología muscular.

La secuenciación del exoma identificó dos polimorfismos funcionales del gen de la MADA (gen AMPD1), C133T (Gln454Ter) y C242T (Pro81Leu) en heterocigosis. No se identificaron polimorfismos ni mutaciones para genes implicados en distrofias musculares, metabolismo lipídico (incluyendo el gen PNPL2A relacionado con el déficit de acilglicérido lipasa), glucogenosis y otras enfermedades musculares con elevación de la CPK.

Discusión:

El defecto de MADA pertenece al grupo de errores congénitos del metabolismo que pueden causar miopatía. El espectro de afectación va desde la elevación de la CPK asintomática hasta la miopatía grave^{3, 4}. En cuanto a la sospecha de dicho defecto, esta ha de establecerse con la ausencia de elevación de los niveles de amonio en el TEI 5. Este hecho permite aseverar que existe un defecto de la MADA, sin poder decir si es primario o secundario a otra miopatía. Este hallazgo es de suma importancia puesto que el pensar que se trate de un defecto primario nos puede llevar al error de no diagnosticar la patología por la cual se produce la miopatía.

En el TEI 5, el defecto de MADA como citamos se caracteriza por ausencia de elevación del amonio tras ejercicio en anaerobiosis^{6, 7}. Es relativamente frecuente encontrar una elevación de lactato menor que en sujetos sanos. Existe la modalidad del test de ejercicio en aerobiosis^{7, 9}, pero hasta la fecha existe mayor información referente al TEI y está mejor estandarizado.

Para que el ascenso de láctico y de amonio sean representativos, el lactato ha de elevarse entre 3 y 5 veces sobre el valor basal y el amonio tras la isquemia ha de llegar a una concentración máxima entre 90-140 mmol/l.

Como hemos comentado anteriormente, no evidenciar ascenso de amonio tras ejercicio anaerobio con ascenso de lactato, ha de hacer sospechar un defecto de MADA, continuando el estudio descartando otras miopatías y en caso de resultar negativo, análisis genético con sospecha de MADA (Figura 2).

Una vez descartadas las causas más comunes de miopatía (hipotiroidismo, tóxicos, fármacos, autoinmunidad) con un TEI sin aumento del amonio y aumento de lactato (con esto descartamos las glucogenosis musculares y apoya el defecto de MADA), hay que realizar determinación de acilcarnitinas para explorar el catabolismo lipídico muscular. Valores de acilcarnitinas normales descartan defectos de beta oxidación mitocondrial y defectos del transporte de la carnitina, aunque en este caso pueden permanecer normales en periodos de reposo. En este escalón diagnóstico habría que plantearse la realización de una biopsia muscular por varios motivos: 1) Realización de técnicas inmunohistoquímicas para descartar una distrofia muscular. 2) Descartar la presencia de vacuolas lipídicas, fundamentalmente para descartar un déficit de acilglicérido lipasa, cuyo defecto no afecta a la concentración de acilcarnitinas. 3) En casos de alta sospecha clínica de enfermedad mitocondrial (sordera neurosensorial, retinosis pigmentaria, alteraciones hormonales, epilepsia, ictus, etc.) realizar estudio de la cadena respiratoria^{9, 10}.

En el caso expuesto no se realizó biopsia muscular y se realizó secuenciación masiva del genoma. Esto se debe a que llegando al punto de haber descartado las miopatías con expresión en el metabolismo, que se pueden identificar con análisis de metabolitos en plasma, las potenciales causas eran concretas. Por orden de probabilidad que se contemplaban eran en primer lugar un defecto de MADA, en segundo una distrofia muscular y en tercero un déficit de acilglicérido lipasa. El diagnóstico definitivo, con independencia del resultado de una biopsia, dependería del análisis genético posterior, con lo que para evita la secuenciación gen a gen, según las sospechas diagnósticas, se realizó directamente una secuenciación masiva del exoma, que daría información en relación a las mutaciones que presentase el paciente en las patologías mencionadas, incluso podría identificar polimorfismos o variantes que no producen enfermedad de la MADA en caso de asociarse a otra de las miopatías anteriormente mencionadas.

El resultado, como se menciona anteriormente es el hallazgo de dos polimorfismos funcionales, que sin mutaciones en otros genes de patologías que producen miopatía, se consideran como causales de enfermedad muscular en el paciente.

Actualmente no está establecido el uso de la secuenciación masiva del genoma en las miopatías, pero sin lugar a dudas y desde nuestra experiencia, una vez descartadas las causas que se pueden diagnosticar sin análisis genético, este es de gran utilidad. En el proceso diagnóstico llega un momento en el que no se puede avanzar más, adquiriendo un papel fundamental el análisis genético. El principal problema es realizar la secuenciación del gen de la enfermedad sospechada o la realización de las mutaciones más prevalentes para esa enfermedad ya que en muchas ocasiones nos lleva a resultados negativos, teniendo que elegir otro gen candidato de esta o bien de otra enfermedad (la segunda sospecha clínica), prolongándose el diagnóstico del paciente y los costes. Con la realización de la secuenciación masiva del genoma evitamos la secuenciación gen a gen, consiguiendo en gran parte de los casos un diagnóstico preciso.

En el caso concreto del defecto de MADA, el diagnóstico prácticamente es de exclusión con otras enfermedades musculares, con lo que siempre podemos estar ante la posibilidad de un defecto secundario⁸. Si realizásemos la secuenciación del gen de la MADA, (gen AMPD1, Cr 1p13), podríamos encontrarnos con un resultado negativo y por tanto deberíamos buscar otro gen. En este segundo caso es donde podemos encontrarnos con mutaciones del gen AMPD1 que no causan la miopatía del paciente o que no es la única alteración genética responsable de la miopatía, pues como citamos anteriormente, un 1% de la población caucásica puede presentar mutaciones o polimorfismos que no tienen necesariamente que ocasionar enfermedad. En cuanto a la realización de la biopsia muscular, en el caso de sospecha de defecto de MADA la indicación es relativa, puesto que si están descartadas el resto de miopatías, la secuenciación nos informará que del defecto del gen, a priori sin necesidad de biopsia muscular.

En los casos en los que no se realice biopsia muscular hay que tener seguridad de que se trata de una miopatía de evolución no agresiva y de origen genético, puesto que en caso de que no ser así, probablemente sea necesaria la biopsia para descartar un proceso autoinmune muscular (pese a pruebas de autoinmunidad negativas).

Por otra parte, el resultado de una biopsia muscular que no oriente a una enfermedad en concreto, junto con el defecto de MADA documentado en el TEI, puede inducir a realizar el análisis del gen AMPD1.

El resultado de este análisis si no demuestra mutaciones o polimorfismos funcionales no es problemático, ya que hemos de continuar en el diagnóstico de la miopatía.

Diferente es el caso de encontrar mutaciones o polimorfismos funcionales, que siguiendo el argumento diagnóstico, establecen el diagnóstico del defecto de MADA.



Esta segunda situación puede llevar a error, puesto que hay enfermedades musculares con mínima expresión en la biopsia muscular que ocasionan un defecto secundario de MADA y que pueden tener polimorfismos o mutaciones que no necesariamente ocasionen enfermedad¹⁰.

En esta situación es donde juega un papel crucial la secuenciación masiva del exoma, puesto que permite diferenciar si el defecto es exclusivo del gen AMPD1 o bien existen mutaciones en otro gen con mayor probabilidad ocasione la miopatía.

Actualmente no existe ningún tratamiento que restaure la funcionalidad del enzima. Se ha utilizado la administración de D-Ribosa de forma continua y 30-60 minutos previamente al ejercicio. Administrándose previamente al ejercicio se consigue mejora de la tolerancia a este. El efecto de la D-Ribosa es transitorio. Los efectos secundarios que se han evidenciado en los pocos estudios realizados son diarrea (más frecuente cuando la dosis supera 200 mg/kg/h en casos de administración continua y por vía oral) e hipoglucemia leve asintomática (más frecuente en administración endovenosa), puesto que estimula la liberación de insulina. La ribosa administrada presenta una fracción que se transforma en glucosa y que es utilizada para la síntesis de purinas, siendo esta la que interesa en el defecto de MADA ^{1, 11, 12}.

Conclusiones:

El déficit de MADA es una causa frecuente de miopatía metabólica con expresión fenotípica variable. El hallazgo que nos debe sugerir este defecto en el TEI es la presencia de un ascenso de lactato discreto en muchos casos, en otros normal, y ascenso nulo del amonio. Dicho hallazgo confirma una actividad insuficiente de la MADA, pudiendo ser el origen primario o secundario. La biopsia muscular no es indispensable para el diagnóstico, se ha de individualizar su indicación. En determinados pacientes se puede realizar directamente el estudio genético.

En los casos en los que se prescindiera de biopsia, el estudio genético de elección es la secuenciación masiva del exoma, ya que si se trata de un defecto de MADA secundario demostrará el gen responsable de la miopatía. Si no se realiza biopsia muscular, es importante descartar una miopatía progresiva y/o grave, en la que la información obtenida de la biopsia muscular tendría implicaciones en el tratamiento.

Conflicto de intereses:

- Juan José Nava Mateos declara no tener conflicto de intereses.
- Raquel Besse Díaz declara no tener conflicto de intereses.
- Vicente Gómez del Olmo declara no tener conflicto de intereses.
- Olivia Sánchez Sánchez declara no tener conflicto de intereses.
- Diego Ramón Cebrián Novella declara no tener conflicto de intereses.
- María Soledad Añón Roig declara no tener conflicto de intereses.
- Marta Rosas Cancio Suárez declara no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Goebel HH. and Bardosi A. Myoadenylate Deaminase Deficiency. *Klin Wochenschr* 1987; 65 (21): 1023–33.
2. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zöllner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Jul 15; 89(14):6457-61.
3. Abe M, Higuchi I, Morisaki H, Morisaki T, Osame M. Myoadenylate deaminase deficiency with progressive muscle weakness and atrophy caused by new missense mutations in AMPD1 gene: case report in a Japanese patient. *Neuromuscul Disord*. 2000 Oct;10(7):472-7.
4. Goebel HH, Bardosi A, Conrad B, Kuhlendahl HD, DiMauro S, Rumpf KW. Myoadenylate deaminase deficiency. *Klin Wochenschr*. 1986 Apr 1; 64(7):342-7.
5. Livingstone C, Chinnery PF, Turnbull DM The ischaemic lactate ammonia test. *Ann Clin Biochem*. 2001 Jul; 38(Pt 4):304-10.
6. Volpi L1, Ricci G, Orsucci D, Alessi R, Bertolucci F, Piazza S, Simoncini C, Mancuso M, Siciliano G. Metabolic myopathies: functional evaluation by different exercise testing approaches. *Musculoskelet Surg*. 2011 Aug; 95(2):59-67.
7. Tarnopolsky M. Exercise testing in metabolic myopathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2012 Feb;23(1):173-86.
8. Fishbein WN. Myoadenylate Deaminase Deficiency: Inherited and acquired forms. *Biochem Med*. 1985 Apr; 33(2):158-69.
9. Y. Rannou F et al. Diagnostic Algorithm for Glycogenoses and Myoadenylate Deaminase Deficiency Based on Exercise Testing Parameters: A Prospective Study. *PLoS One*. 2015 Jul; 24;10 (7).
10. Navarro-Abia V, Aparicio-Meix JM. Confirmación genética del déficit de mioadenilato desaminasa. *Rev Neurol*. 2014; 59: 382-3. Myoadenylate deaminase deficiency: clinico-pathological and molecular study of a series of 27 Spanish cases. *Clin Neuropathol*. 2009 Mar-Apr; 28(2):136-42.
11. Wagner DR, Gresser U, Zöllner N. Effects of oral on Muscle Metabolism during Bicycle Ergometer in AMPD-Deficient Patients. *Ann Nutr Metab* 1991; 35 (5):297-302.
12. Gross M, Reiter S, Zöllner N. Metabolism of D-Ribose Administered Continuously to Healthy Persons and to Patients with Myoadenylate Deaminase Deficiency. *Klin Wochenschr*. 1989 Dec 4; 67(23):1205-13.
13. Teijeira S et al. Myoadenylate deaminase deficiency: clinicopathological and molecular study of a series of 27 Spanish cases.
14. Van Adel BA, Tarnopolsky MA. Metabolic myopathies: update 2009. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2009 Mar;10(3):97-121.
15. Tein I. Metabolic myopathies. *Semin Pediatr Neurol*. 1996 Jun; 3(2):59-98.

16. Fiayes DJ, Summers BA, Morgan-Hughes JA (1982) Myoadenylate deaminase deficiency or not?. Observations on two brothers with exercise-induced muscle pain. *J Neurol Sci.* 1982 Jan; 53(1):125-36.
17. Conal C. Kar, PhD, Carl M. Pearson, MD. Muscle Adenylate Deaminase Deficiency. Report of six new cases. *Arch Neurol.* 1981 May; 38(5):279-81.
18. Arenas J1, Martín MA. Metabolic intolerance to exercise. *Neurologia.* 2003 Jul-Aug; 18(6):291-302.
19. Fishbein WN, Armbrustmacher VW, Griffin JL. Myoadenylate deaminase deficiency: a new disease of muscle. *Science* 1978 May;200 (4341):545-548.
20. Norman B, Glenmark B, Jansson E. Muscle AMP deaminase deficiency in 2% of a healthy population. *Muscle Nerve* 1995 Feb;18:239-241.
21. Morisaki T, Gross M, Morisaki H, Pongratz D, Zöllner N, Holmes EW. Molecular basis of AMP deaminase deficiency in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Jul 15; 89(14):6457-61.
22. Goebe! HH, Bardos: A, Conrad B, Kuhlendahl HD, Di Mauro S, Rumpf KW (1986) Myoadenylate deaminase deficiency. *Klin Wochenschr.* 1986 April; 64(7):342-7.
23. Tonin P1, Lewis P, Servidei S, DiMauro S. Metabolic causes of myoglobinuria. *Ann Neurol.* 1990 Feb; 27 (2): 181-5.



Journal

of Negative & No Positive Results

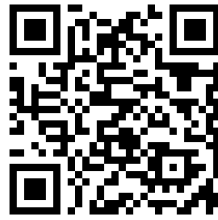
**ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA
PARA EL PROGRESO DE LA MEDICINA**

Listado de Revisores (2016)

LISTADO DE REVISORES

Roxana Bravo	Centro Nacional de Planeamiento Estratégico (CEPLAN), Perú
Francisco Javier Carrera Hueso	Servicio de Farmacia Hospital Dr Moliner , Valencia. España
Luis Collado Yurrita	Departamento de Medicina, Universidad Complutense de Madrid. España
Antonio Cruz	Servicio de Neurología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España
Jesus M. Culebras	De la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León. España
Katerina Culebras	Unidad de Trastornos de Comportamiento Alimentario . Hospital Quirón, Madrid, España
Mauricio Di Silvo	Dirección de Educación y Capacitación del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga. México
Angeles Franco Lopez	Jefa del Servicio de Radiología. Hospital Universitario Sant Joan, Alicante. España
Abelardo García de Lorenzo	acCatedrático y Director de la Cátedra de Medicina Crítica y Metabolismo-UAM. Jefe de Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario La Paz-Carlos III. Madrid. Instituto de Investigación IdiPAZ. España
Javier Gonzalez Gallego	Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León, España
Jose Antonio Irlés Rocamora	UGC Endocrinología y Nutrición Hospital Ntra Sra de Valme, Sevilla. España
Beatriz Jáuregui Garrido	Hospital Virgen del Rocío (Unidad de Arritmias). España
Ignacio Jáuregui Lobera	Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Área de Nutrición y Bromatología. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla. España
Arturo Jimenez Cruz	Facultad de Medicina y Psicología y Universidad Autónoma de Baja California, México
Francisco Jorquera Plaza	Jefe de Servicio de Aparato Digestivo Complejo Asistencial Universitario de Leon, España
Emilio Martinez de Vitoria	Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix" (INYTA). Universidad de Granada. Armilla Granada. España
Jose Luis Mauriz Gutierrez	Institute of Biomedicine (IBIOMED). University of León. España
Paloma Muñoz-Calero Franco	Servicio de Psiquiatría , Hospital de Mostoles. Madrid. España
Juan José Nava Mateos	Hospital de Cruces, Barakaldo, Vizcaya, España. Médico Adjunto del Servicio de Medicina Interna.
Pedro Luis Prieto Hontoria	Universidad SEK. Facultad de Salud y Ciencias de la Actividad Física. Chile

Francisco Rivas García	Ayuntamiento de Guadix (Granada). Unidad Municipal de Salud y Consumo. España
Amelia Rodríguez Martín	Catedrática de Salud Pública de la Facultad de Enfermería y Fisioterapia. Universidad de Cádiz. España
José Antonio Rodríguez Montes	Catedrático de Cirugía. Universidad Autónoma de Madrid. España
Ismael San Mauro Martín	CINUSA Group. C/ Artistas, 51. 28020, Madrid, España
Francisco J Sánchez Muniz	Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. España
Sergio Santana Porbén	Médico, Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica, Máster en Nutrición en Salud Pública, Profesor Asistente de Bioquímica, Editor-Ejecutivo de la RCAN Revista Cubana de Alimentación y Nutrición. La Habana, Cuba
Javier Sanz-Valero	Àrea d'Historia de la Ciència. Dept. Salut Pública, Història de la Ciència y Ginecologia. Universitat Miguel Hernández. Sant Joan d'Alacant. España
Pedro Juan Tárraga López	FEA de Atención Primaria GAI Albacete. Profesor y Coordinador del Área de Atención Primaria de la Universidad de Castilla la Mancha. Albacete. España
María Loreto Tárraga Marcos	Departamento de Psicología. Facultad de Medicina de Albacete. España
Rocio Vera-Lechuga	Servicio de Neurología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España
Dan Waitzberg	University of Sao Paulo Medical School. Brasil
Carmina Wanden-Berghe	Hospital General Universitario de Alicante ISABIAL-FISABIO. España



Journal

of Negative & No Positive Results

**OFICIAL ORGAN OF THE ASSOCIATION FOR THE PROGRESS OF
BIOMEDICINE**

Internal editorial process of JONNPR (2016)

INTERNAL EDITORIAL PROCESS OF JONNPR

Articles received:	56	
Accepted:	46	82.14%
Rejected:	10	17.86%
Average number of reviewers per article:		2.89
Average time between reception and review (Days):		0.91
Average time for review (Days):		4.91
Average time between acceptance and publication (Days):		1.33
<u>ENDOGRAMY:</u>	20	42.55%

LANGUAGE:

Spanish:	35	74.47%
English:	8	17.02%
Bilingual:	4	8.51%

COUNTRY OF ORIGIN:

SPAIN:	36	76.60%
OTHER:	11	23.40%

<u>COUNTRY</u>	<u>NUMBER OF ARTICLES</u>	<u>%</u>
ARGENTINA	2	4.26%
COLOMBIA	1	2.13%
CUBA	1	2.13%
SPAIN	36	76.60%
MÉXICO	7	14.89%

<u>SECTION</u>	<u>NUMBER OF ARTICLES</u>	<u>%</u>
01 EDITORIAL	7	14.89%
02 SPECIAL ARTICLES	1	2.13%
03 ORIGINAL	33	70.21%
04 REVIEW	2	4.26%
05 LETTER TO THE EDITOR	1	2.13%
06 OBITUARY	2	4.26%
07 OTHERS	1	2.13%