

FONTUS

REVISTA PATROCINADA POR LA ASOCIACIÓN DE PROFESORES DEL NÚCLEO DE SUCRE Y EL
CONSEJO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE



Nº 18 JULIO 2025



EDITOR JEFE

Manuel Vicente Centeno-Romero

EDITORES

Daniel Milano

William José Velásquez Sonsonetti

José Isaías Salas (CAFAM-Invitado)

EDITOR FUNDADOR

Pedro A. Plaza Ramírez

COMITÉ EDITOR

Ramón López Planes

Tomás Azócar

Elizabeth Méndez

Ney Luiggi

José H. Brandt

Damaris Zerpa

Daniel Brito

Blanca Rojas de Gascue

Euclides Velazco

COMITÉ DE ASESORES

Carmen Barreto (UDO)	Nelson Caraballo (UDO)
Magaly Guerrero (UDO)	Héctor Rodríguez (UDO)
Darío Zorrilla (UDO)	Luis Joaquín Córdova (UDO)
Carolina Lista (UDO)	María Eugenia Tovar (UDO)
Luz Marina Rojas (UDO)	Felicia Montaña (UDO)
Carmen Guevara (UDO)	Rafael García (UDO)
Jesús Lezama (UDO)	Bertha Barrera Cova (UDO)
Antulio Prieto A. (UDO)	Edgar Alí Medina (UDO)
Brightdoom Márquez (UDO-IOV)	Irian Reyes (UDO)
César Lodeiros (UDO-IOV)	Rafael Torrealba (UNERG)
José Robert Melchor (UDO)	José G. Acuña Evans (UPEL-IPM)
Tania Ramírez (UDO)	Celso Medina (UPEL-IPM)
Lope Marín (UDO)	Freddy Millán (UPEL-IPM)
María Valera (UDO)	José Alejandro Salgado (UNEFA)
Antonio J. Maldonado (UDO)	Nelson José Merentes (UCV)
Wilfredo Silva (UDO)	Juan José Salazar (ULL-España)
Andrés Velásquez (UDO)	

FONTUS

Revista arbitrada multidisciplinaria patrocinada por la Asociación de Profesores del Núcleo de Sucre, el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, con la colaboración de la Fundación Universitaria CAFAM, con sede en la República de Colombia

Nº 18 - JUNIO 2025

Cualquier reproducción parcial o total de los artículos debe indicar nombre del autor y de la revista.

Las opiniones son responsabilidad del autor

Derechos reservados

Portada:

Autor. Dr. CELSO MEDINA

Colección privada

Técnica: Photoshop

Dirección: **FONTUS**, APUDONS,

E mail: fontus@udo.edu.ve

revistafontus@gmail.com

Edición digital

Hecho en depósito de ley.

Depósito legal P.P 1997 02SU182.

ISSN N° 1316-8622

RIF.: J-30805042-3

EDITORIAL

El Renacer de "Fontus": para inspirar el futuro interdisciplinario.

Con profunda emoción y renovado vigor, la Apudons, en colaboración con el Consejo de Investigación UDO y la Fundación Universitaria CAFAM, presenta con orgullo el relanzamiento, ahora en formato digital, de la revista científica Fontus. Esta publicación retorna a la vanguardia de la difusión científica en una presentación que abraza las posibilidades del siglo XXI.

Este renacimiento no es solo una actualización tecnológica; es una reafirmación de nuestro compromiso con la promoción y divulgación de la investigación, la colaboración interdisciplinaria y la difusión del saber en su más amplio espectro. Fontus aspira ser ese espacio de encuentro, donde las ideas converjan, se fecunden y generen nuevos caminos hacia la comprensión y la solución de problemas.

Este momento de relanzamiento tiene a su vez una sentida evocación. Rendimos un merecido y afectuoso homenaje a la memoria del Dr. Jesús Bastardo, quien fuera pilar fundamental para Fontus. Su visión, dedicación y aguda inteligencia editorial fueron cruciales para establecer el rigor y excelencia que hoy buscamos revitalizar. Su liderazgo inspiró a generaciones de investigadores, su legado perdura en cada página que hoy presentamos y en el espíritu de apertura y curiosidad que animará cada número futuro.

La transición al formato digital nos permite ampliar el alcance de Fontus, facilitando el acceso a un público global y agilizando los procesos de revisión y publicación. Esta nueva plataforma nos ofrece la oportunidad de incorporar recursos multimedia, fomentar la interacción entre autores y lectores, y garantizar una mayor visibilidad para las investigaciones de vanguardia que albergará. Invitamos a la comunidad científica, a los profesionales de diversas áreas del conocimiento y a todos aquellos con una sed insaciable de aprender, a explorar las nuevas posibilidades que ofrece Fontus.

Este es un nuevo comienzo con la mirada puesta en un futuro de colaboración y descubrimiento. Con el apoyo continuo de nuestros miembros, las instituciones aliadas y la invaluable contribución de investigadores de todo el espectro científico, estamos seguros de que Fontus retomará su lugar como una publicación de referencia en el panorama académico interdisciplinario. Les damos una calurosa bienvenida a esta nueva era de Fontus: un espacio para la convergencia del conocimiento y propulsado por un futuro digitalmente conectado.

Dr. Manuel Vicente Centeno Romero

Presidente Apudons

Editor Jefe de Fontus

“La ciencia no conoce fronteras, ni disciplina que la limite. Su verdadero progreso reside en la fertilización cruzada de ideas, en el diálogo constante entre diversas formas de interrogar la realidad”

SEMBLANZA DEL DR. JESÚS W. BASTARDO G. (1938-2022)

Profile of Dr. Jesús W. Bastardo G. (1938-2022)

Antonio Maldonado¹¹Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis

Skinof Dr. Jesús W. Bastardo G.

(1938-2022)

Jesús W. Bastardo G. nació en Zaraza, estado Guárico, el 10 de enero de 1938. Sus primeros tres años transcurrieron con normalidad hasta la pronta desaparición física de su padre. Sin embargo, se acopló rápido a su nueva situación familiar. Su madre, poco tiempo después, decide mudarse a la población de Tucupido, estado Guárico, donde Jesús estudia la primaria. Años más tarde la familia se traslada a Valle De La Pascua, también en el estado Guárico, donde inicia sus estudios de bachillerato. Siendo un joven inquieto e inteligente, decidió ir a Caracas a terminar su último año de bachillerato y obtener el título de Br. en Biología y Química (1958). Mientras vivió en Caracas se enteró de la creación, en la Universidad Central de Venezuela (UCV), de una nueva carrera: Bioanálisis. Se inscribió y en 1961 se gradúa de Bioanalista. Uno de sus profesores, el Dr. Luis Manuel Peñalver, había iniciado la creación de la Universidad de Oriente (UDO) en Cumaná, estado Sucre, le contó del proyecto y lo animó a ser parte de ella. El joven llanero tuvo sus dudas y pidió pasar un tiempo en Cumaná para tomar una decisión, pero al encontrarse con las bellas costas y la naciente universidad cerca de ellas, realizando sus primeros

estudios marinos, se convenció y vio el futuro prometedor de la UDO.

Con tan solo 24 años de edad comenzó a dictar sus primeras clases de Bioquímica y Biología a los jóvenes estudiantes. Años después, se crea la escuela de Ciencias y decide seguir su carrera docente en el departamento de Biología. Ya para ese momento sentía interés por la Microbiología y en 1965 pidió permiso para realizar una especialización en Microbiología en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), en el laboratorio de enterovirus del centro de Microbiología. Al año siguiente le tocó pasar al laboratorio de Arbovirus, como parte de su formación, y estuvo bajo la dirección del Dr. Gernot H. Bergold. El joven Jesús, ya mucho más maduro en su formación microbiológica, se sintió atraído por los Arbovirus.

Regresa a la UDO en 1967 con una base más sólida en Microbiología y comienza a ofrecer esa asignatura en el departamento de Biología y dirigir los primeros trabajos de grado en este campo. En 1968 aprovecha salir del país a la Universidad de Kansas (EE.UU.), bajo el plan Kansas University – Universidad de Oriente (PLAN KUUDO) y en 1970 regresa a la UDO con el título de *Master of Arts* (Microbiología) y forma varias

líneas de investigación, permitiéndole dirigir los primeros trabajos de grado en este campo. Entre los primeros estudiantes graduados por el Dr. Jesús Bastardo se encuentran Rafael Lemus Mieres (1972), Carmen Teresa Gil de Rodríguez (1973), Nohelia Cañizares Bello (1975) y Ana Rosa García Peinado (1975). Entre 1973 y 1977 fue jefe del departamento de Biología y director de la escuela de Ciencias. En el transcurso de su última gestión administrativa, realizó contacto con el Dr. Ian H. Holmes, arbovirólogo de la Universidad de Melbourne, Australia, para que lo aceptara en su laboratorio y realizara los estudios doctorales.

A finales de 1977 viaja a la Universidad de Melbourne y al llegar le propusieron participar en la investigación de un reciente agente viral descubierto por la Dra. Ruth Bishop, llamado Rotavirus. En 1978 inicia la caracterización de dicho agente y con esfuerzo y originalidad culmina su trabajo de investigación con éxito (*Characterization of Rotavirus antigens*) del cual derivaron publicaciones pioneras que aún siguen citándose en muchas revistas y libros especializados. En 1981 obtiene el título de *Doctor of Philosophy* y regresa a Venezuela retomando sus asignaturas de la carrera de Biología, pero en esta oportunidad creando unas nuevas como Virología, Inmunología y Microbiología Aplicada. Por otra parte, también crea la línea de investigación en Rotavirus, iniciando este tipo de estudio en el oriente del país.

Con la idea de dejar una obra que permitiera a los nuevos biólogos egresados de la UDO ampliar sus conocimientos, funda en 1986, junto con el Dr. N.R. Iyer, microbiólogo del departamento de Biología, el postgrado en Biología Aplicada. Como primer coordinador le toca la difícil tarea de poner en marcha todo lo relacionado a la docencia e investigación y garantizar a los estudiantes los recursos para culminar con éxito su maestría. Uno de los laboratorios del postgrado fue el de Virología, donde

continuó sus estudios en Rotavirus y participando en varios proyectos a nivel nacional. En 1992, con 30 años de servicio, se jubila de la UDO y se dedica a la docencia e investigación en el postgrado.

En 1993 publica el libro “Rotavirus y gastroenteritis: una reseña con énfasis en la Epidemiología, inmunidad y tratamiento de la enfermedad”, editado por la coordinación de publicaciones del rectorado de la UDO. El Dr. Luis Delfín Ponce Ducharne expresa en el prólogo del libro que el Dr. Bastardo «*hace un análisis equilibrado de comprobaciones internacionales, nacionales y propios del autor, que llevan a conclusiones de gran utilidad para el tratamiento y la prevención de unas de las enfermedades infantiles más frecuentes y de mayor mortalidad en los países en vías de desarrollo*» y más adelante agrega «*...el contenido y calidad de la obra constituyen soporte de singular valor para biólogos, profesionales de las ciencias de la salud en general; y en especial, para profesores y alumnos de esas disciplinas.*»

En 2011 el Dr. Jesús Bastardo y el Dr. Daniel Milano se incorporan como editores principales de la revista FONTUS, revista científica y multidisciplinaria patrocinada por la Asociación de Profesores de la UDO Núcleo de Sucre (APUDONS) y el Consejo de Investigación de la UDO, que junto al comité editor se dedicaron a darle una nueva imagen a la revista, diseñando «*...un nuevo formato, con el fin de otorgarle una presentación más acorde a su espíritu, finalidad y corte...*», como lo manifestó el Dr. Manuel V. Centeno-Romero, presidente de la APUDONS en la editorial de la nueva revista.

No hay que pasar por alto otros cargos que tuvo el Dr. Bastardo en la Universidad de Oriente como:

- Representante profesoral ante el consejo de la escuela de Ciencias.
- Representante profesoral ante el consejo de núcleo.
- Coordinador de la comisión de investigación del núcleo de Sucre (desde octubre del año 1984 hasta septiembre del año 1986).
- Coordinador del programa de postgrado en Biología Aplicada (desde su creación, en marzo de 1986, hasta marzo de 1990).
- Coordinador de postgrado del núcleo de Sucre (desde agosto del año 1988 hasta julio del año 1993).
- Jefe del departamento de Técnicas Especiales en el Instituto de Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA) de la Universidad de Oriente (1995).
- Miembro de la comisión reestructuradora del Instituto de Investigación en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA) de la Universidad de Oriente (1995-1996).
- Coordinador del despacho de la secretaría de la Universidad de Oriente. Desde octubre de 1998 a junio 2002.

A pesar de los títulos obtenidos y cargos desempeñados durante toda su vida académica y de investigación, nunca se envaneció por ellos, al contrario, fue una persona sencilla, humilde y de gran corazón, dispuesto siempre a ayudar a quien lo necesitara. El 27 de julio de 2022

falleció, dejando un legado en el área de la Microbiología y Virología en la UDO, pero sobre todo en la historia de la rotavirología en Venezuela y el mundo. Siempre será recordado y se seguirá su ejemplo.

Dr. Antonio Maldonado

PROTOCOLO PARA EL CONTROL Y MITIGACIÓN DEL CORAL BLANDO INVASOR *UNOMIA STOLONIFERA* (ALCYONACEA, XENIIDAE)

Protocol for the control and mitigation of the invasive soft coral *Unomia stolonifera*
(Alcyonacea, XenIIDae)

*¹Salazar, Sinatra K., ²Lárez, Carol Y., ³Arcia, Migdalia M., ⁴Montes Andrés

*¹Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela, ²Fundación
Instituto de Estudios Avanzados. IDEA Mochima, ³Gobernación del Estado Sucre

⁴Instituto Socialista de Pesca y Acuicultura INSOPESCA

**salazarsinatra32@gmail.com, carolyovana@gmail.com, migdalia893@gmail.com,
arrechon@gmail.com**

RESUMEN

Ante la emergencia ambiental que atraviesa el Parque Nacional Mochima y costas occidentales del país por la invasión del coral exótico *Unomia stolonifera*, se han intensificado las acciones investigativas, y entre ellas el desarrollo de estrategias de prevención y monitoreo de esta invasión. *U. stolonifera* es un invasor exitoso principalmente por su reproducción sexual y asexual que le permite una mayor alcance e invasión. Se ha diseñado un protocolo de control para esta especie, basado en experiencias efectivas en otros corales blandos y considerando aspectos de su biología. Esta metodología se puso a prueba en tres zonas dentro del parque y en diferentes ecosistemas por intervalos de tiempo de 5, 10 y 15 días. En todas las situaciones se eliminó *U. stolonifera*. El protocolo ha sido efectivo para eliminar el coral sin tocarlo, extraerlo o fragmentarlo aumentando su dispersión, además de ser una metodología económica, poco invasiva y amigable con el ambiente. Esta metodología utilizada por la comunidad organizada y con el apoyo gubernamental regional y nacional, contribuiría efectivamente al control de la invasión de *U. stolonifera*.

Palabras clave: Mitigación, octocoral, Mochima, Unomia.

ABSTRACT

Given the environmental emergency that the Mochima National Park and the western coasts of the country are experiencing due to the invasion of the exotic coral *Unomia stolonifera*, investigative actions have been intensified, including the development of prevention and monitoring strategies for this invasion. *U. stolonifera* is a successful invader mainly due to its sexual and asexual reproduction that allows it a greater range and invasion. A control protocol has been designed for this species, based on effective experiences in other soft corals and considering aspects of its biology. This methodology was tested in three areas within the park and in different ecosystems for time intervals of 5, 10 and 15 days. In all situations, *U. stolonifera* was eliminated. The protocol has been effective in eliminating the coral without touching it, extracting it or fragmenting it, increasing its dispersion, in addition to being an economical, non-invasive and environmentally friendly methodology. This methodology used by the organized community and with regional and national government support, would effectively contribute to the control of the *U. stolonifera* invasion.

Key word: Mitigation, octocoral, Mochima, Unomia.

INTRODUCCIÓN

Las invasiones biológicas de especies exóticas introducidas son la segunda causa de pérdida de la biodiversidad y responsables de la extinción de especies y cambios en los ecosistemas en todo el mundo, por lo que el manejo de estas especies es uno de los mayores desafíos para la conservación de la biodiversidad (Bellard *et al.*, 2016; Giakoumi *et al.*, 2019).

El Parque Nacional Mochima y las costas occidentales del país, no han escapado a este fenómeno y enfrentan actualmente, una emergencia ambiental por la presencia e invasión de una especie de coral blando exótico, *U. stolonifera*. Aunque no está claro cómo fue su llegada o introducción a las costas sucrenses, su registro data del año 2005, *U. stolonifera* es originario de Indonesia y el océano Índico, y es una especie que puede adaptarse a cualquier superficie, creciendo y asfixiando ecosistemas con su desmedido crecimiento gracias a la reproducción asexual o por fragmentos, que le brinda una mayor dispersión. Esta especie recientemente fue reubicada taxonómicamente debido a la problemática taxonómica de esta especie (Ruiz Allais *et al.*, 2014, 2021; Benayahu *et al.*, 2021).

Actualmente esta especie ha invadido el 40% del Parque Nacional Mochima provocando un daño considerable y

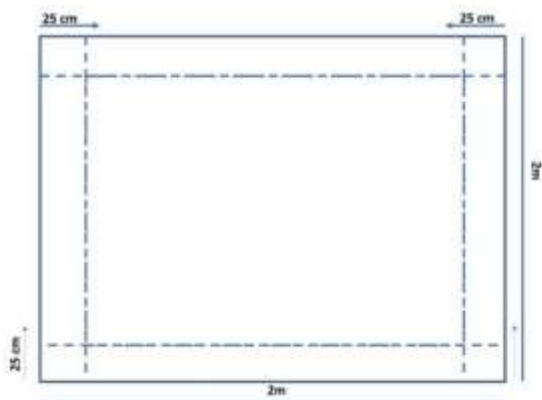
continúa aumentando con el tiempo. En este contexto, desde el año 2022 se han intensificado las investigaciones sobre esta especie en búsqueda de estrategias y mecanismos para su control y mitigación. La extracción mecánica de este coral no ha sido efectiva, por el contrario, ha contribuido a su dispersión ya que cada fragmento que se desprende es capaz de formar una nueva colonia.

Investigaciones avalan que estos organismos pueden atacarse controladamente para su eliminación con la aplicación de hipoclorito de sodio (Altwater *et al.*, 2017) o ácido acético/vinagre (Creed *et al.*, 2019) o el tratamiento con agua dulce (Moreira *et al.*, 2014), no obstante, ante una invasión ya establecida que ocupa grandes espacios, dichas soluciones se hacen inviables y muy costosas. Es necesario reconocer que la invasión de *U. stolonifera* puede ser controlada y/o mitigada pero no erradicada, y en este contexto el objetivo de esta investigación es el diseño y aplicación de un protocolo ecológico, económico que permita controlar la invasión en zonas accesibles de uso común o turístico y zonas donde la invasión está iniciando.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este protocolo se diseñó considerando las características biológicas y morfológicas de la especie invasora. Se elaboraron

parches de plástico resistente color negro, de 2 m de ancho por 2 m de largo. A este recuadro se le cosieron bolsillos laterales de 25 cm de ancho por cada lado, los cuales se dejaron abiertos por un extremo,



los mismos se cierran con velcro (Figura1). Estos bolsillos fueron llenados con arena, pues es el elemento que le dará peso para que se hunda y mantenga en el fondo.



Figura 1. Esquema de la construcción de los parches (izquierda) y parches acabados con bolsillos llenos arena (derecha) y que se colocaron en las zonas invadidas de *Unomia stolonifera*

Debido a la morfología y estructura blanda que caracterizan las aglomeraciones de este coral, este diseño permite cubrir la zona seleccionada, y el peso de la arena en los bordes del recuadro lo mantiene en el fondo y asegura así su efectividad. Se puede colocar sobre la pradera de fanerógamas, sustrato arenoso, arrecifes coralinos y litoral rocoso, en el caso de estos dos últimos ecosistemas, la flexibilidad del parcho para estructuras irregulares queda determinada por la cantidad de arena en los bolsillos. El método, implica la aplicación de una barrera impermeable que encierra completamente la superficie subacuática, aislándolas del agua circundante.

Se colocaron tres parches por zona: isla Arapo, El Congrio y Mochimacon el fin de verificar la acción de los parches sobre los ecosistemas de arenas, arrecifes de coral y praderas de *Thalassia* respectivamente y en intervalos de tiempo de cinco (5), diez (10) y quince días (15) de aplicación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que cubrir las colonias de *U. stolonifera* con parches de plástico negro, es una forma efectiva de eliminarla de una zona específica. El resultado presentado fue similar en las tres zonas y el mínimo tiempo para evidenciar la muerte del coral invasor fue de cinco días (Figura 2). Es importante destacar que, en este periodo de tiempo de aplicación del tratamiento, especialmente

sobre el ecosistema de pradera de *Thalassia*, se elimina el coral, pero no se afecta del todo a la fanerógama,

permitiendo su recuperación una vez retirada el parche.



Figura2. Aspectos de la acción de los parches colocados en el fondo marino en la localidad de Mochima sobre la pradera de *Thalassia* (imagen superior, antes y después de colocado el parche) y fondo areno fangoso invadido por *U. stolonifera* luego de cinco días (colocado el 20 y levantado el 26 de abril del año en curso). Obsérvese la necrosis del coral y pólipos vivos al margen de la zona tratada, así como peces consumiendo el coral en descomposición. Se aprecia el color oscuro del sustrato

En los periodos de tiempo de 10 y 15 días solo se observa la intensificación del grado de necrosis del tejido sobre cualquiera de los ecosistemas (figuras 3 y 4), destacando el color grisáceo del sustrato característica que permite visualizar la zona tratada desde la superficie.

U. stolonifera muere por una combinación factores tales como la falta de luz solar,

oxígeno, aumento de dióxido de carbono, falta de alimento y desgaste físico por el roce del parche debido al movimiento del agua dificultando el movimiento de los tentáculos, resultados similares en corales del género *Tubastrea* fueron obtenidos por Mantelatto *et al.* (2015), con la diferencia que ellos envolvieron las colonias del invasor.



Figura3. Aspectos de la acción de los parches colocados en el fondo marino en la localidad de Mochima sobre un fondo arenoso y de *Thalassia* invadida por *U. stolonifera* luego de diez días (colocado el 26 de abril y levantado el 02 de mayo del año en curso). Obsérvese el avance de la necrosis del coral y peces consumiendo este material en descomposición.



Figura 4. Aspectos de la acción de los parches colocados sobre la invasión de *U. stolonifera* en la localidad de El Congrio sobre fondo coralino (izquierda) y fondo arenoso rocoso en isla Arapo luego de diez días (colocado el 26 de abril y levantado el 02 de mayo del año en curso).

Es importante destacar, que la aplicación de esta metodología permite eliminar *U. stolonifera* sin tocarlo, fragmentarlo, evitando en menor grado su dispersión, en las figuras antes mostradas se observó como los pólipos afectados por el tratamiento mueren y los que quedan fuera del tratamiento no se ven afectados. Así

mismo no hay necesidad de sacarlo del agua, causando afección al medio ambiente por el mal olor que despiden el coral al descomponerse al aire libre. El mal olor una vez destapados los parches solo duró el tiempo en que las olas y el movimiento del agua tarda en remozar la zona.

Este protocolo para eliminar y controlar la invasión de *Unomia stolonifera*, es económico y mínimamente invasivo y dispersivo para cualquiera de los ecosistemas tratados, es importante acotar que sí tiene interferencia con otras especies y es posible que algunos organismos mueran en este escenario, pero una vez eliminado el coral, se abren opciones de recuperación y/o remediación del ecosistema. Las constantes corrientes contribuirán al lavado del sustrato, arrastre del invasor muerto y en descomposición, incorporándola al ciclo vital en el mar, y permitirá en el corto y mediano plazo la recuperación y sucesiones de las especies, hecho que se observó con las diferentes especies de peces y crustáceos observados sobre la zona tratada comiendo *Unomia* en descomposición.

Resultados similares han sido presentados en tunicados invasores como *Styela clava* (Coutts y Forrest 2005), sobre *Didemnum vexillum* (Coutts y Forrest 2007) y *Cionasavignyi* (Pool *et al.*, 2013). En concordancia con Mantelatto *et al.* (2015), este método modificado, no requiere agentes adicionales, sin embargo, el hecho de que el parche crea una especie de bolsa de aire una vez que se deja caer sobre la zona invadida, y aísla al coral, brinda para futuros estudios, la

ventaja adicional de facilitar la adición de productos alelopáticos naturales para acelerar los tiempos de tratamiento, en caso de que se considere conveniente.

Las especies invasoras una vez establecidas son de erradicación difícil muchas veces imposibles y costosas. La invasión de *Unomia stolonifera* en las costas venezolanas y áreas marinas protegidas, es claro ejemplo de este señalamiento, ha alcanzado gran espacio y sigue avanzando si no se ponen en práctica estrategias de prevención, educación y protección dirigidas al control de esta invasión.

La metodología empleada no eliminará la especie de estas zonas, pero si contribuirá a mantener en control la invasión, especialmente en zonas donde ésta es incipiente. Si la comunidad organizada actúa en conjunto para la aplicación de este protocolo con apoyo de las autoridades gubernamentales locales y nacionales con competencia en ambiente y zonas marinas protegidas, se puede lograr un gran avance en el control del coral invasor de una manera económica, ecológica y no dispersiva. Adicionalmente la vigilancia y control por parte de las autoridades contribuiría a evitar mayor dispersión de este organismo por acción de vectores ya determinados, todo ello

en sinergia en pro de mantener, conservar y recuperar nuestros activos ecológicos.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Ciencias y Tecnología MINCYT y FUNDACITE Sucre por el financiamiento y asesoría administrativa otorgado al proyecto “Estudio de los ecosistemas de arrecifes, manglares y pastos marinos con miras a evaluar la invasión de *U. stolonifera*, presencia de otras especies exóticas invasoras (EEI), relación con el cambio climático y diseño de un plan de control y monitoreo de EEIS en el Parque Nacional Mochima (PNM) estado Sucre, Venezuela”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTVATER, L., Messano, L.V.R., Andrade, M., Apolinario, M., Coutinho, R. 2017. Use of sodium hypochlorite as a control method for the non-indigenous coral species *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829. *Manag. Biol. Invasion* 8:197–204.

BELLARD, C., Cassey, P., Blackburn, T.M., 2016. Alienspecies as a driver of recent extinctions. *Biol. Lett.* 12:1-4.

BENAYAHU, Y., Van Ofwegen, L.P., Ruiz Allais, J.P. and Mcfadden, C.S. 2021. Revisiting the type of *Cespitularia stolonifera* Gohar, 1938 leads to the description of a new genus and a species of the family Xenidiidae (Octocorallia, Alcyonacea). *Zootaxa*, 4964(2):330–344.

COUTTS, A.D.M. and Forrest, B.M. 2005. Evaluation of eradication tools for the clubbed tunicate *Styela clava*. Cawthron Institute, Nelson, New Zeland. Cawthron Report. 1110. 48 pp

COUTTS, A.D.M. and Forrest B.M. 2007. Development and application of tools for incursion response: Lessons learned from the management of the fouling pest *Didemnum vexillum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*342:154–162.

CREED, J.C., Masi, B.P. and Mantelatto, M.C. 2019. Experimental evaluation of vinegar (aceticacid) for control of invasive corals (*Tubastraea* spp.) and a review of knowledge for other aquatic pests. *Biol. Invasions*. 21:1227–1247.

GIAKOUMI, S., Katsanevakis, S., Albano, P. G., Azzurro, E., Cardoso, A., Cebrian, E., Deidun, A., Edelist, D., Francour, P., Jiménez, C., Mačić, V., Occhipinti-Ambrogi, A., Rilov, G. and Ramzi Sghaier, Y. 2019. Management prioritiesfor marine invasive species. *Sci. Total Environ.* 688:976–982.

MANTELATTO, M. L., Marques Pires, G. J. De Oliveira G.and CreedJ.C. 2015. A test of theefficacy of wrapping to manage the invasive corals *Tubastraea tagusensis* and *T. coccinea*. *Manage. Biol. Invasions*. 6(4): 367–374.

MOREIRA, P.L., Ribeiro, F.V. and Creed, J.C. 2014. Control of invasive marine invertebrates: an experimental evaluation of the use of low salinity for managing pest corals (*Tubastraea* spp.). *Biofouling*. 30:639–650.

POOL, T.K., Luis S. and Olden J.D. 2013. Assessinglethal dissolved oxygen tolerance for invasive tunicate *Cionasavigny* iin Puget Sound. *Northwest Sci.*87:106–113.

RUIZ-ALLAIS, J., Amaro, M., Mcfadden, C., Halász, A. and Benayahu, Y. 2014. The first incidence of an alien soft coral of the family Xeniidae in the Caribbean, an invasion in eastern Venezuelan coral communities. *Coral Reefs* 33(2):287.

RUIZ-ALLAIS, J., Benayahu, Y. and Lasso-Alcalá, O. 2021. The invasive octocoral *Unomia stolonifera* (Alcyonacea, Xeniidae) is dominating the benthos in the Southeastern Caribbean Sea. *Mem. Fund. La Salle Cienc. Nat.* 79(187):63-80.

CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE ASPECTOS MORFOLÓGICOS DEL CORAL INVASOR *Unomia stolonifera* (OCTOCORALLIA: ALCYONACEA)

Contribution to the knowledge of the morphological aspects of the invasive coral *Unomia stolonifera* (Octocorallia: Alcyonacea)

Lárez López Carol Yovana^{1*}, Salazar Sinatra Katherine², Montes Mata Andrés Antonio³, Penott Maita Ruben Dario⁴, Vallenilla González Osmicar Manuel⁵, Arcia Barreto Migdalia María⁶ y Morales Esparragoza Josefa Antonia⁷

^{1,4}Estación de Investigaciones Marinas Mochima. Fundación Instituto de Estudios Avanzados IDEA, ²Departamento de Biología Marina, Instituto Oceanográfico de Venezuela, ³Instituto Socialista de Pesca y Acuicultura INSOPESCA, ⁵**Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas INA-Sucre**, ⁶Gobernación del Estado Sucre, ⁷Instituto Socialista de Pesca y Acuicultura INSOPESCA

¹carolyovana@gmail.com²salazarsinatra32@gmail.com³arrechon@gmail.com⁴penottrd@gmail.com⁵osmicaruptos@gmail.com⁶migdalia893@gmail.com⁷josefamorales62@gmail.com

RESUMEN

Los octocorales son animales en su mayoría coloniales que no poseen esqueleto calcáreo. El coral blando *Unomia stolonifera* es un organismo exótico invasor dentro del Parque Nacional Mochima y para comprender más sobre la biología de este organismo, se estudiaron aspectos morfológicos de la especie. Para ello se recolectaron de manera manual y cuidadosamente colonias del coral para su descripción. Se analizó la ramificación, número de pínulas y talla de los estolones. Las colonias estudiadas presentaron tamaño variable con estolones que midieron desde 2 hasta 6 cm de largo; mientras que, los pólipos iban desde 0,5 hasta 2 cm de largo. Los pólipos juveniles presentaron dos filas de pínulas con número entre 14 y 16 en la fila más externa del tentáculo; mientras que, pólipos adultos presentaron tres filas de pínulas con número entre 25 y 30. *U. stolonifera* es un organismo versátil con gran capacidad de adaptación que crece en forma arborescente, cuyo tallo o estolón puede ramificarse en varias colonias, de tamaño variable, determinado en función del sustrato y los parámetros bióticos y abióticos que definieron en gran medida su establecimiento.

Palabras clave: *Unomia*, Xeniidae, Bahía de Mochima, exótico invasor.

ABSTRACT

Octocorals are mostly colonial animals that do not have a calcareous skeleton. The soft coral *Unomia stolonifera* is an invasive exotic organism within the Mochima National Park and to understand more about the biology of this organism, morphological aspects of the species were studied. To do this, coral colonies were carefully and manually collected for description. The branching, number of pinnules and size of the stolons were analyzed. The colonies studied varied in size with stolons measuring from 2 to 6 cm long; while, the polyps ranged from 0.5 to 2 cm in length. The juvenile polyps presented two rows of pinnules with a number between 14 and 16 in the outermost row of the tentacle; while, adult polyps presented three rows of pinnules with a number between 25 and 30. *U. stolonifera* is a versatile organism with great capacity for adaptation that grows in an arborescent form, whose stem or stolon can branch into several colonies, of

variable size, determined in function of the substrate and the biotic and abiotic parameters that largely defined its establishment.

Key words: *Unomia*, Xeniidae, Mochima Bay, invasive exotic.

INTRODUCCIÓN

Los octocorales son animales simples capaces de crear comunidades muy complejas y diversas con una gran capacidad de adaptación y mutación como un rasgo en evolución (Oceana, 2007). Dentro de los Octocorallia: Alcyonacea conocidos como corales blandos, las especies de la familia Xeniidae, son en su mayoría miembros esenciales de las comunidades de arrecifes tropicales en todo el Pacífico Indo Occidental y el Mar Rojo (Oceana 2007, Stemmer *et al.*, 2012, Subhan *et al.*, 2022).

Por la alta variación morfológica y limitados índices taxonómicos ha sido difícil identificar los géneros y especies en la familia Xeniidae; sin embargo, se han efectuado investigaciones en el campo morfológico y molecular (McFadden *et al.*, 2014; Koido *et al.*, 2019; Benayahu *et al.*, 2021), que en ocasiones han contribuido a la descripción de nuevas taxas (Benayahu *et al.*, 2021; Benayahu *et al.*, 2022), composición mineral de los escleritos (Drake *et al.*, 2021), identificación de especies por medio de escleritos (Subhan *et al.*, 2022) y capacidad de regeneración (Nadir *et al.*, 2023).

U. stolonifera es un xenido proveniente del Indo Pacífico que fue introducido en el Parque Nacional Mochima (PNM) y actualmente ocupa espacios importantes dentro de la zona y otras áreas costeras del país. El coral es un invasor exitoso en los diferentes ecosistemas que ocupa, debido a las características propias que tiene los individuos pertenecientes a la familia Xeniidae, entre ellas: gran capacidad de colonización de arrecifes y nuevos espacios debido a sus diferentes tipos de reproducción principalmente la asexual, que le permite alcanzar mayor dispersión, la alta fecundidad, ausencia de depredadores, producción de sustancias químicas o alelopáticas que impiden el acercamiento de otras especies, competencia por la luz y el alimento (Moreira y Creed 2012; Mizrahis *et al.*, 2017; Nadir *et al.*, 2023).

Siendo una invasión inédita para Venezuela, inicialmente la especie fue descrita como un organismo perteneciente a la familia de los xenidos por Ruíz-Allais *et al.* (2014), más tarde Salazar (2018) consideró la presencia del coral blando como una amenaza para el PNM; al igual que Ruíz-Allais *et al.* (2021) para el suroriente del mar Caribe. En este

contexto se conoce que *U. stolonifera* es un organismo colonial que crece y se dispersa rápidamente y para ahondar en el conocimiento de su biología, se estudiaron muestras de este coral y se caracterizaron aspectos morfológicos para contribuir a la comprensión de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se recolectaron manual y cuidadosamente colonias de *U. stolonifera* mediante apnea, a profundidades entre 0 y 3 metros en la Bahía de Mochima, estado Sucre, Venezuela (10°20'50.25" N 64°20'30.88 W), siendo transportadas hasta la Estación de Investigaciones Marinas Mochima, donde se mantuvieron en acuarios de 40 litros de capacidad con aireación constante y recambio de agua interdiario.

Morfología del coral

Se registraron y fotografiaron con un microscopio digital portátil HD 12 MP características morfológicas de colonias frescas del coral invasor incluidas dimensiones, ramificación y la forma de la poliparfa, cuantificando el número de filas de pinnulas y el número de pinnulas en el lado aboral de los tentáculos; además se registró la longitud del cuerpo del pólipo y los estolones (Halász *et al.*, 2019).

RESULTADOS

Visualmente *U. stolonifera* es abundante y dominante en los ecosistemas invadidos en áreas preferiblemente con aguas de poco movimiento en sustratos rocosos, arenosos y sobre praderas de pastos marinos dentro del PNM en el estado Sucre. Es un coral blando que vive en colonias y se erige en forma arborescente, de cuerpo gelatinoso o como una masa flexible, color beige, mientras que los tentáculos, las pinnulas presentan una coloración marrón intensa, con tonalidades verdes entremezcladas (Figura 1). Las colonias estudiadas presentaron tamaño variable con estolones o tallos cilíndricos generalmente ramificados, que midieron desde 2 hasta 6 cm de largo; mientras que, los pólipos iban desde 0,5 hasta 2 cm. Por su parte los tentáculos retractiles del pólipo son más anchos hacia la base con tendencia a estrecharse hacia la punta distal, donde suele disminuir de filas contentivas de pinnulas.

Del estolón se deriva un número variable de colonias que va desde 2 hasta 9; en las adultas, los pólipos oscilaron entre 40 y 65 organismos; mientras que en colonias juveniles se contabilizaron de 20 a 35 pólipos. De cada lado de los tentáculos, se contabilizaron entre 14 y 16 pinnulas, organizadas en dos filas en pólipos juveniles (Figura 2); mientras que, en los pólipos

adultos, las pínulas con número entre 25 y 30 se encontraron dispuestas a lo largo tres filas en cada lado de tentáculo; con espacios de separación entre cada pínula puntiaguda, para todos los pólipos de las colonias

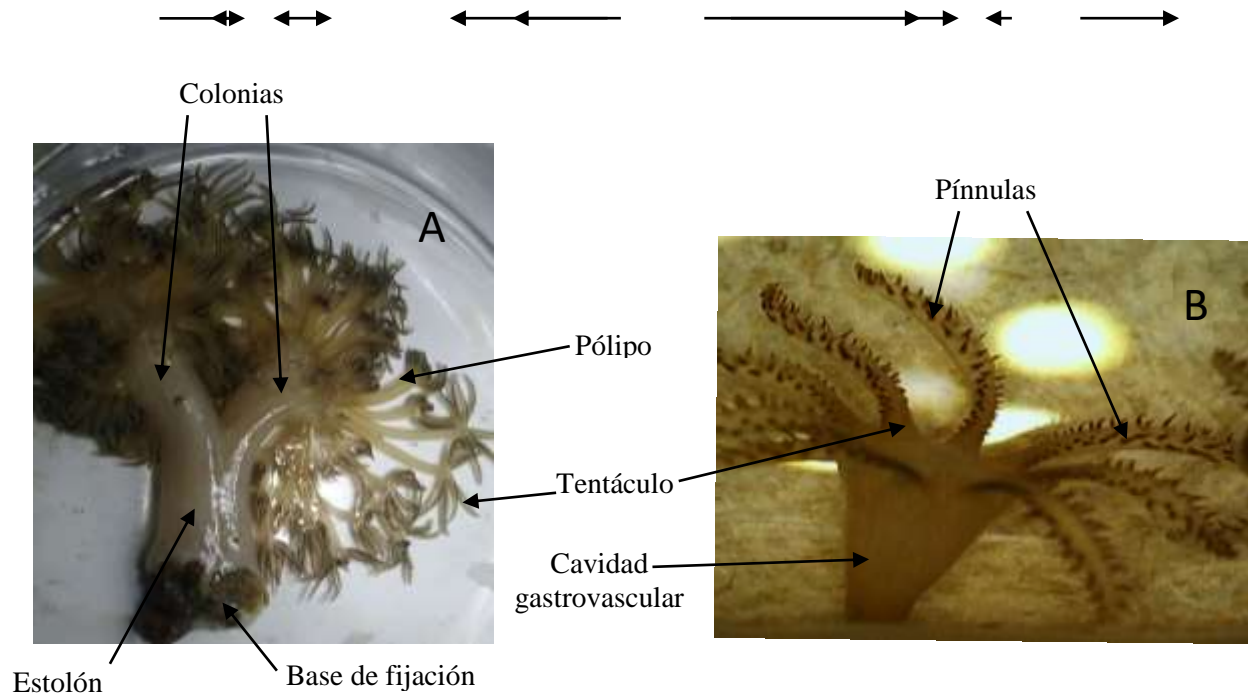


Figura 1.- *Unomia stolonifera* y sus componentes. A: Vista macroscópica del octocoral. B: Detalle microscópico de un pólipo

DISCUSIÓN

Los octocorales exhiben diversas morfologías que pueden definir en parte su éxito en un ambiente específico al erigirse de manera vertical y ramificada sobre el sustrato. Janes (2008) describió diez especies de octocorales xenidos de las Islas Seychelles en el océano indico occidental, particularmente *Heteroxenia elizabethae* es similar a *U. stolonifera* en su tallo grande, largo y liso, con tentáculos provistos de tres filas de

pínulas ahusadas hacia arriba, aunque en ocasiones encontraron cuatro filas; sin embargo, ambas especies difieren en el número de pínulas, para *H. elizabethae* se encontraron entre 18 y 23; mientras que, para *U. stolonifera* fueron entre 25 y 30 en este estudio y esto difiere de lo encontrado por Benayahu *et al.* (2021) quienes en esta última especie consiguieron de 20 a 25 pínulas; no obstante, se coincide en las características descritas.



Figura 2.- Filas de pínulas en tentáculos de un pólipo del coral invasor *U. stolonifera*. A: en pólipos juveniles. B: en pólipos en adultos

Por otra parte, los recientes estudios y avances en filogenia han permitido la descripción de nuevas especies como el caso de *Xenia konohana*, reportada en Japón, por Koido *et al.* (2022), quienes describieron a su organismo morfológicamente y como nuevo miembro del género *Xenia* basado en relaciones filogenéticas moleculares y la presencia de husos únicos que no estuvieron presentes en clados hermanos; sugiriendo posibles revisiones taxonómicas adicionales para los géneros *Xenia*, *Ovabunda*, *Heteroxenia*, *Sansibia*, *Asterospicularia*, *Yamazatamy* *Unomia*. Considerando que *U. stolonifera*, inicialmente llamada *Xeniasp*, es originaria de Indonesia, resulta importante destacar que este género se encontró presente en solo una isla de las tres estudiadas en el estrecho Makassar de ese país, estudio realizado por Putra *et al.* (2022), que dejó en evidencia la baja distribución en la zona; aunque la

investigación no representa toda la biogeografía de los corales blandos.

Además, se ha reconocido la alta plasticidad fenotípica en octocorales que les provee una mayor adaptabilidad, con la habilidad de generar fenotipos adecuados y ajustados a las condiciones locales, por medio de la inducción de cambios morfológicos (Mejía, 2020), siendo similar a lo observado en el medio natural en colonias de *U. Stolonifera* que han adoptado distintos tipos de coloraciones y tallas dentro del PNM y se presume que esto está ligado a las interacciones bióticas, abióticas y a la heterogeneidad de hábitats dentro del parque, que favorecieron la proliferación del exótico. Al respecto Almeida *et al.* (2014), indicaron que la distribución de los octocorales en grandes áreas espaciales está regulada principalmente por el sustrato, la temperatura y la salinidad, mientras que, en áreas más pequeñas, el suministro de alimentos es uno de los

factores más importantes que controlan la distribución de las especies.

CONCLUSIONES

U. stolonifera es un organismo versátil con gran capacidad de adaptación que crece en forma arborescente, cuyo tallo o estolón puede ramificarse en varias colonias, de tamaño variable, determinado en función del sustrato y los parámetros bióticos y abióticos que definieron en gran medida su establecimiento.

AGRADECIMIENTO

El desarrollo de este trabajo fue posible gracias al financiamiento otorgado por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y Tecnología, a través del FONACIT por el proyecto N° 20220PGP71 y al apoyo logístico recibido de parte Enrique Ortiz y del personal de FUNDACITE Sucre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.T.R., Moritz, M.I.G., Capel, K.C.C., Pérez, C.D. and Schenkel, E.P. 2014. Chemical and biological aspects of octocorals from the Brazilian coast. *Rev. Bras. Farmacogn.* 24:446-467.

BENAYAHU, Y., Van Ofwegen, L.P., Ruiz-Allais, J.P. and McFadden, C.S. 2021. Revisiting the type of *Cespitularia stolonifera* Gohar, 1938 leads to the description of a new genus and a species of the family XenIIDae (Octocorallia, Alcyonacea). *Zootaxa.* 4964 (2): 330–344. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4964.2.5>

BENAYAHU, Y., Ekins, M., Ofwegen, L.P., Samini-Namin, K. and McFadden, C.S. 2022. On some encrusting XenIIDae (Octocorallia): Re-examination of the type material of *Sansibia flava* (May, 1898) and a description of new taxa. *Zootaxa.* 5093(4):421-444.

DRAKE, J.L., Beyanayahu, Y., Polishchuk, I., Pokroy, B., Pinkas, I. and Mass, T. 2021. Sclerites of the soft coral *Ovabundamacroscopiculata* (XenIIDae) are predominantly the metastable CaCO₃ polymorph vaterite. *Acta Biomater.* 135:663–670 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.08.051>

HALÁSZ, H., McFadden, C.S., Toonen, R. and Benayahu, Y. 2019. Re-description of type material of *Xenia* Lamarck, 1816 (Octocorallia: XenIIDae). *Zootaxa.* 4652 (2):201–239.

JANES, M.P. 2008. A study of the XenIIDae (Octocorallia, Alcyonacea) collected on the “Tyro” expedition to the Seychelles with a description of a new genus and species. *Zool. Med. Leiden.* 82 (49):599-626.

KOIDO, T., Imahara, Y. and Fukami, H. 2019. High species diversity of the soft coral family XenIIDae (*Octocorallia*, *Alcyonacea*) in the temperate region of Japan revealed by morphological and molecular analyses. *ZooKeys.* 862:1–22. <https://doi.org/10.3897/zookeys.862.31979>

KOIDO, T., Imahara, Y. y Fukami, H. 2022. *Xenia konohana* sp. nov. (Cnidaria, Octocorallia, Alcyonacea), a new soft coral species in the family XenIIDae from Miyazaki, Japan. *ZooKeys.* 1085:29–49. <https://doi.org/10.3897/>

MCFADDEN, C.S., Reynolds, A.M. and Janes, M.P. 2014. DNA barcoding of xeniid soft corals (Octocorallia: Alcyonacea: XenIIDae) from Indonesia:

species richness and phylogenetic relationships. *Systematics and Biodiversity*. 12 (2):247-257. <https://doi.org/10.1080/14772000.2014.902866>

MEJÍA, KJ. 2020. Variación morfométrica en octocorales del género *Pacifigorgia* (Octocorallia: Gorgoniidae). Trab. Grado, M.Sc en Ciencias-Biología. Convenio Universidad Nacional de Colombia-INVEMAR, Instituto de Estudios en Ciencias del Mar-CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Santa Marta.

MIZRAHI, D., Pereira, S.F. Navarrete, S.A. and Flores, A.A.V. 2017. Allelopathic effects on the sun-coral invasion: facilitation, inhibition and patterns of local biodiversity. *Mar Biol*. 164:139. <https://doi.org/10.1007/s00227-017-3164-3>

MOREIRA, T.S.G. and Creed, J.C. 2012. Invasive, non-indigenous corals in a tropical rocky shore environment: No evidence for generalist predation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 438:7–13.

NADIR, E., Lotan, T. and Benayahu, Y. 2023. *Xenia umbellata* (Octocorallia): A novel model organism for studying octocoral regeneration ability. *Front. Mar. Sci*. 10:1021679. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.101679>

OCEANA. 2007. Los corales del Mediterráneo. Fondazione Zegna. pp 90.

PUTRA, A.W., Priawandiputra, W., Litaay, M. and Atmowidi, T. 2022. Comparison of shallow water soft coral (Octocorallia) diversity and distribution among three islands in Makassar Strait, Indonesia. *Biodiversitas*. 23:5951-5961.

RUIZ-ALLAIS, J.P., Amaro, M.E., McFadden, C.S., Halasz, A. and Benayahu, Y. 2014. The first incidence of

an alien soft coral of the family Xenidae in the Caribbean, an invasion in eastern Venezuelan coral communities. *Coral Reef*. 33 (2):287.

RUIZ-ALLAIS, J.P., Benayahu, Y. and Lasso-Alcalá, O.M. 2021. The invasive octocoral *Unomia stolonifera* (Alcyonacea, Xenidae) is dominating the benthos in the Southeastern Caribbean Sea. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*. 79 (187):63-80.

SALAZAR, C. 2018. Coral blando *Xeniasp*. Amenaza del Parque Nacional Mochima. Serie I Encuentro de Investigadores de INPARQUES. 11 pp.

STEMMER, K., Burghardt, I., Mayer, C., Reinicke, G.B., Wägele, H., Tollrian, R. and Leese, F. 2012. Morphological and genetic analyses of xeniid soft coral diversity (Octocorallia; Alcyonacea). *Org Divers Evol*. <https://doi.org/10.1007/s13127-012-0119-x>.

SUBHAN, B., Bengen, D.G., Ferse, S., Dzulfannazhir, F., Anggraini, N.P., Santoso, P., Arafat, D., Sanai, L.M.I., Prehadi, P. and Madduppa, H. 2022. Morphological identification of the soft coral, *Clavularia inflata*, reveals different sclerite characters across Indonesian coral reefs. *DepikJurnalIlmu-IlmuPerairan, Pesisir dan Perikanan*, 11 (2): 223-230. <https://doi.org/10.13170/depik.11.2.22102>

CONTROL ÓPTIMO DE SISTEMAS GOBERNADOS POR ECUACIONES NO LINEALES EN DERIVADAS PARCIALES, SINGULARMENTE PERTURBADAS

Optimal control of systems governed by nonlinear partial differential equations singularly perturbed

^{1*}Manuel V. Centeno-Romero ²Fernando J. Marval L. ³Armando L. Anselmi E. ⁴José F. Lockiby A.

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, ^{1,2,3}Departamento de Matemáticas, ⁴Departamento de Informática, Cumaná, estado Sucre, Venezuela

¹manuelcenteno11@gmail.com ²fmarval59@hotmail.com ³alanselm2010@gmail.com
⁴jlockiby@gmail.com

RESUMEN

La teoría de perturbaciones es una colección en las que se involucra un parámetro pequeño ε . En este trabajo se consideran problemas de perturbación singular en el control óptimo, para ecuaciones no lineales en derivadas parciales, se estudia el comportamiento asintótico de la solución cuando $\varepsilon \rightarrow 0$, haciendo uso de un caso especial del resultado dado en Komornik (1985), desarrollamos un caso particular con ciertas condiciones para obtener la solución del problema original, resolviendo el problema perturbado.

Palabras claves: perturbaciones, singularidad, control, optimalidad.

ABSTRACT

Perturbation theory is a collection that involves a small parameter ε . In this paper we consider problems of singular perturbation in the optimal control for nonlinear partial differential equations. The asymptotic behavior of the solution is studied when $\varepsilon \rightarrow 0$ using a special case of the result given in Komornik (1985). We developed a particular case with certain conditions in order to obtain the solution of the original problem, solving the perturbed problem.

Key words: perturbation, singularity, control, optimality

INTRODUCCIÓN

Las aproximaciones asintóticas son una herramienta muy usada en las matemáticas aplicadas, incluyendo problemas físicos. Con frecuencia aparecen problemas para los que es difícil encontrar la solución exacta. Las soluciones a estos problemas pueden, a veces, tomar la forma de una aproximación, una solución numérica, y, en algunos casos, de una combinación de ambas. La teoría de perturbaciones es un conjunto de métodos para encontrar soluciones aproximadas analíticas, llamadas aproximaciones asintóticas o soluciones asintóticas, la cual facilita el estudio de problemas complejos en los que aparece un parámetro pequeño (Gil, 2008).

Los métodos de perturbación son muy eficientes para tratar muchos problemas de las Matemáticas aplicadas, cuando el modelo contiene un parámetro pequeño ε . Se dice que una perturbación es regular si el modelo que corresponde a $\varepsilon = 0$ es del mismo tipo que el modelo que corresponde a $\varepsilon > 0$. En caso contrario, se dice que la perturbación es singular. Un problema de este tipo es el control óptimo de los sistemas gobernados por ecuaciones no lineales en derivadas parciales, singularmente perturbadas.

Muchos problemas de control óptimo requieren penalizaciones que induzcan

dispersión en la solución. Esta característica es buscada debido al efecto de localización en las soluciones que es muy apreciado desde el punto de vista práctico. Guerra (2020), considera un problema de control óptimo para ecuaciones elípticas lineales con término de penalización no convexo, que induce sparcidad en las derivadas parciales (en el sentido débil) del control. Al inducir dispersión en el gradiente del control, se busca que este tenga una variación acotada de manera “localizada”, lo cual hace que el control tenga regiones donde su comportamiento sea constante, análogo al término de penalización de variación total anisotrópica (Chambolle, 2004)

El método de las perturbaciones singulares para el estudio de problemas de contorno relacionados con ecuaciones en diferencias escalares de segundo orden ha sido desarrollado por Comstock y Hsiao (1976) y Reinhardt (1979). Este método ha sido aplicado de manera satisfactoria por Jodar y Morera (1990), para estudiar el comportamiento asintótico de las soluciones de problemas de contorno para sistemas acoplados de ecuaciones en diferencias con coeficientes constantes. En Jodar y Morera (1991), se extienden los resultados de Comstock y Hsiao (1976) y tratando sistemas

acoplados de ecuaciones en diferencias con coeficientes variables.

Bensoussan (1983), mostró que el costo óptimo y el control óptimo, en un sistema singular, tienen sucesos estables con respecto a una perturbación singular. Otros resultados sobre este campo fueron obtenidos por Haraux y Murat (1983), Komornik (1985) y Centeno (1987).

El objetivo de esta investigación es estudiar el siguiente problema de control óptimo, con una perturbación singular dada por un pequeño parámetro.

Dados:

– $J: L^r \times L^{rn} \rightarrow R$, definida por: $J(v, z) = \|z - z_d\|_{rn}^r + l\|v\|_r^r$, donde l es un número real no negativo, $z_d \in L^{rn}$, $1 \leq r, n \leq \infty$,

– $A: L^{rn} \rightarrow L^r$ un operador lineal arbitrario con $D(A)$ denso en L^{rn} ,

– $J_\varepsilon = \inf\{J(v, z) \mid v \in D(A), v = \varepsilon Az + |z|^n\}$, con $\varepsilon \in R$, $\varepsilon \neq 0$ y $U_{ad} \subset L^r$ el espacio admisible, $\{u_\varepsilon\}; \{y_\varepsilon\}$, sucesiones con $(u_\varepsilon, y_\varepsilon) \in U_{ad} \times D(A)$, tales que: $u_\varepsilon = \varepsilon Ay_\varepsilon + |y_\varepsilon|^n$, $J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) \leq J_\varepsilon + |\varepsilon|$.

Dar condiciones suficientes para que las sucesiones $\{u_\varepsilon\}, \{y_\varepsilon\}, \{J_\varepsilon\}$ sean convergentes cuando ε tiende a cero.

En este trabajo se desarrolla un caso especial de este resultado, dado en Komornik (1985).

Además, se estudia el caso particular: dadas

las funciones $f: L^{2n} \rightarrow L^2$, $g: L^2 \rightarrow R$ y $h: L^{2n} \rightarrow R$ definidas por:

$$f(z) = z^n + (z + 1)^n, \quad n \in N - \{1\}$$

$$g(v) = l\|v\|_2^2, \quad 0 \leq l \leq \infty$$

$$h(z) = \|z - z_d\|_{2n}^{2n}, \quad z_d \in R \text{ fijo, pero arbitrario.}$$

Se dan ciertas condiciones para obtener la solución del problema original resolviendo el problema perturbado.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Sean X e Y dos espacios de Banach, $f: X \rightarrow Y$ una función continuamente diferenciable; $g: Y \rightarrow R$ y $h: X \rightarrow R$ funciones convexas una vez continuamente diferenciables y acotadas inferiormente. $A: D(A) \subset X \rightarrow Y$ es un operador lineal (no necesariamente continuo) con $D(A) \subset X$ denso. $F: X \rightarrow R$ convexa y definida por $F(y) = g'(u_0)f(y)$ para todo $y \in X$, $u_0 \in Y$ y supóngase que existe $z_0 \in X$, tal que:

$$(1) g'(f(z_0))f'(z_0) + h'(z_0) = 0$$

$$(2) \text{ Para } z_k \in X, \|z_k\| \rightarrow \infty, \text{ entonces } h(z_k) \rightarrow +\infty$$

$$(3) J: Y \times X \rightarrow R; J(v, z) = g(v) + h(z)$$

$$(4) J_0 = \inf\{J(v, z): v = f(z)\}$$

$$(5) J_\varepsilon = \inf\{J(v, z): v = \varepsilon Az + f(z); \varepsilon \in R - \{0\}\}$$

Se probará que $J_\varepsilon \rightarrow J_0$ cuando $\varepsilon \rightarrow 0$, en donde J_ε es la solución del problema

perturbado y J_0 la solución del problema original.

Teorema 1.- Si existe $(v_0, z_0) \in Y \times X$; $v_0 = f(z_0)$ con $J(v_0, z_0) = J_0$, entonces z_0 satisface (1).

Demostración. Considérense $(v_0, z_0) \in Y \times X$; $v_0 = f(z_0)$ con $J(v_0, z_0) = J_0$, entonces para $p \in X$ y $t \in R^+$, se tiene que $(z_0 + t_p) \in X$ y $f(z_0 + t_p) \in Y$, de donde, $(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) \in Y \times X$ y $(f(z_0), z_0) \in Y \times X$. Luego, $J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p)$ y $J(f(z_0), z_0) \in Y \times X$ están definidas y pertenecen al conjunto de los números reales. Por (3) $J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) = g(f(z_0 + t_p)) + h(z_0 + t_p)$ y $J(f(z_0), z_0) = g(f(z_0)) + h(z_0)$. Como $v_0 = f(z_0)$ y $J(v_0, z_0) = J_0$, entonces por la condición (4) se tiene que $J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) \geq J(f(z_0), z_0)$, por lo que $J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) - J(f(z_0), z_0) \geq 0$, pero $t \in R^+$ entonces $\frac{J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) - J(f(z_0), z_0)}{t} \geq 0$, así $0 \leq \frac{J(f(z_0 + t_p), z_0 + t_p) - J(f(z_0), z_0)}{t} = \frac{g(f(z_0 + t_p)) + h(z_0 + t_p) - g(f(z_0)) - h(z_0)}{t}$, entonces $0 \leq \frac{g(f(z_0 + t_p)) - g(f(z_0))}{t} + \frac{h(z_0 + t_p) - h(z_0)}{t} \Rightarrow 0 \leq g'(f(z_0))f'(z_0) + h'(z_0)p + \frac{\theta(t)}{t}$, de donde,

$0 \leq (g'(f(z_0))f'(z_0) + h'(z_0))p$, para todo $p \in X$, por lo tanto, $g'(f(z_0))f'(z_0) + h'(z_0) = 0$.

Observación 1. Considérese $z = y_0$ una solución de (1) y $u_0 = f(y_0)$, entonces (u_0, y_0) es un par minimizante para $\{J(v, z)/v = f(z)\}$. Considérese también $(u_\varepsilon, y_\varepsilon)$ un par minimizante para el conjunto $\{J(v, z)/v = \varepsilon Az + f(z); \varepsilon \neq 0\}$; es decir, un par minimizante donde $u_\varepsilon = \varepsilon Ay_\varepsilon + f(y_\varepsilon)$ y $J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) < J_\varepsilon + |\varepsilon|$. Luego se darán condiciones para que $u_\varepsilon \rightarrow u_0$ en Y y $y_\varepsilon \rightarrow y_0$ en X cuando $\varepsilon \rightarrow 0$.

Observación 2. Considérese Z un espacio de Banach y $G: Z \rightarrow R$ una función convexa y una vez continuamente derivable, entonces:

$$(6) \quad G(a + b) = G(a) + G'(a)b + \theta(b) \quad (b \rightarrow 0), \text{ para todo } a \in Z.$$

Proposición 1. Sea X un espacio normado; $G: X \rightarrow R$ una función convexa y diferenciable, entonces $G(a + b) - G(a) + G'(a)b \geq 0$, para todo $a, b \in X$.

Demostración. Para todo $\lambda \in R$ tal que $0 \leq \lambda \leq 1$ se tiene que: $\lambda(a + b) + (1 - \lambda)a = a + \lambda b$, entonces como $(a + \lambda b) \in X$ para todo $\lambda \in R$, se tiene que: $G(\lambda(a + b) + (1 - \lambda)a) = G(a + \lambda b)$, pero como G es convexa, entonces $G(\lambda(a + b) + (1 - \lambda)a) \leq \lambda G(a + b) + (1 - \lambda)G(a)$, por lo tanto $G(a + \lambda b) \leq \lambda G(a + b) + (1 - \lambda)G(a)$, así

$\frac{G(a+\lambda b)-G(a)}{\lambda} \leq G(a+b) - G(a)$. Pero si λ tiende a cero, se tiene que $\frac{G(a+\lambda b)-G(a)}{\lambda}$ tiende a $G'(a)b$, de donde, $G'(a)b \leq G(a+b) - G(a)$, entonces se tiene que $G(a+b) - G(a) - G'(a)b \geq 0$.

Definición 1.

$$f(\varepsilon) = \begin{cases} \geq O(\varepsilon) \text{ cuando } \varepsilon \rightarrow 0 \text{ sii existen } C \text{ y } \varepsilon_0 > 0, & \text{tal que para todo } \varepsilon \in (0, \varepsilon_0), \frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \geq C \\ \leq O(\varepsilon) \text{ cuando } \varepsilon \rightarrow 0 \text{ sii existen } C \text{ y } \varepsilon_0 > 0, & \text{tal que para todo } \varepsilon \in (0, \varepsilon_0), \frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C \\ = O(\varepsilon) \text{ cuando } \varepsilon \rightarrow 0 \text{ sii existen } C \text{ y } \varepsilon_0 > 0, & \text{tal que para todo } \varepsilon \in (0, \varepsilon_0), \frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} = C \end{cases}$$

Lema 1. $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ si y solo si $-f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$, cuando $\varepsilon \rightarrow 0$.

Demostración. Supóngase que $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ ($\varepsilon \rightarrow 0$), entonces por Definición 1, existen C y $\varepsilon_0 > 0$, tales que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$, $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \geq C \Rightarrow -\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq -C$. Sea $K = -C$, por lo tanto existen K y $\varepsilon_0 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$ $-\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq K$, entonces por Definición 1, $-f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$ ($\varepsilon \rightarrow 0$). El otro sentido de la doble implicación se demuestra de manera similar.

Lema 2. $f(\varepsilon) = O(\varepsilon)$ sii $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ y $f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$.

Demostración. Supóngase $f(\varepsilon) = O(\varepsilon)$, entonces por Definición 1, existen C y $\varepsilon_0 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$ $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} = C$, por lo tanto $C \leq \frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C$, así por Definición 1, se tiene que $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ y $f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$.

Notación 1. $O(\varepsilon)$ denotará una función $O: R \rightarrow R$, tal que existen $C > 0$ y $\varepsilon_0 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$ se verifica que: $\left| \frac{O(\varepsilon)}{\varepsilon} \right| \leq C$.

Supóngase ahora que $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ y $f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$, entonces por la Definición 1, se tiene que existen C_1 y $\varepsilon_0^1 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0^1)$, $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C_1$ y existen C_2 y $\varepsilon_0^2 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0^2)$, $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \geq C_2$. Sea $\varepsilon = \min(\varepsilon_0^1, \varepsilon_0^2)$, entonces existe C tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$, $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} = C$, con $C_2 \leq C \leq C_1$.

Lema 3.

- a. Si $f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$ y $g(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$, entonces $f(\varepsilon) + g(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$.
- b. Si $f(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$ y $g(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$, entonces $f(\varepsilon) + g(\varepsilon) \geq O(\varepsilon)$.

Demostración.

- a. Si $f(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$, entonces por Definición 1 existen C_1 y $\varepsilon_0^1 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0^1)$; $\frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C_1$ y si $g(\varepsilon) \leq O(\varepsilon)$, entonces existen C_2 y $\varepsilon_0^2 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in$

$(0, \varepsilon_0^2); \frac{g(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C_2$. Se desea mostrar que existen C y $\varepsilon_0 > 0$, tal que para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$; $\frac{f(\varepsilon)+g(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq 0$. Considérese $\varepsilon_0 = \min(\varepsilon_0^1, \varepsilon_0^2)$, entonces para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$ se tiene que: $\frac{f(\varepsilon)+g(\varepsilon)}{\varepsilon} = \frac{f(\varepsilon)}{\varepsilon} + \frac{g(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C_1 + C_2$. Sea $C = C_1 + C_2$, entonces se tiene que existen C y $\varepsilon_0 > 0$, tal que $\frac{f(\varepsilon)+g(\varepsilon)}{\varepsilon} \leq C$ para todo $\varepsilon \in (0, \varepsilon_0)$, como se quería demostrar.

- b. Esta parte del lema se demuestra de manera análoga a la parte (a).

Lema 4. Si $f(\varepsilon) = O(\varepsilon) = g(\varepsilon)$, entonces $f(\varepsilon) + g(\varepsilon) = O(\varepsilon)$.

Demostración. Por las partes (a) y (b) del Lema 3, se puede deducir esta propiedad.

CASO ESPECIAL

Antes de enunciar el teorema que presenta el caso especial, se demostrarán algunos lemas previos.

Lema 5. $J_\varepsilon \leq J_0 + O(\varepsilon)$ si $y_0 \in D(A)$.

Demostración. Considérese $y_0 \in D(A) \subset X$, entonces $y_0 \in X$ y existe $f(y_0) \in Y$, tal que $(f(y_0), y_0) \in Y \times X$, pero $Ay_0 \in Y$ y como Y es un espacio de Banach, se tiene que $\varepsilon Ay_0 + f(y_0) \in Y$ para todo $\varepsilon \in R$. Considérese ε distinto de cero, entonces $J(\varepsilon Ay_0 + f(y_0), y_0) \in \{J(v, z)/$

$v = \varepsilon Az + f(z), \varepsilon \in R - \{0\}\}$ por lo tanto $J_\varepsilon \leq J(\varepsilon Ay_0 + f(y_0), y_0) = g(\varepsilon Ay_0 + f(y_0)) + h(y_0)$, por la condición (6) se tiene que:

$$\begin{aligned} g(f(y_0) + \varepsilon Ay_0) + h(y_0) &= g(f(y_0)) + \\ g'(f(y_0))\varepsilon Ay_0 + \theta(\varepsilon Ay_0) + h(y_0) &= \\ g(f(y_0)) + h(y_0) + g'(f(y_0))\varepsilon Ay_0 & \\ + \theta(\varepsilon Ay_0) & \end{aligned}$$

Pero $\theta(\varepsilon Ay_0)$ se aproxima a cero cuando ε tiende a cero, por lo tanto

$$J_\varepsilon \leq J(f(y_0), y_0) + \varepsilon Ay_0 g'(f(y_0)) - J_0 + O(\varepsilon), \text{ de donde } J_\varepsilon \leq J_0 + O(\varepsilon).$$

Lema 6. $J_\varepsilon \geq J_0 - O(\varepsilon)$ si $g'(u_0) \in D(A^*)$.

Demostración. $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) = g(u_\varepsilon) + h(y_\varepsilon)$, entonces $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq g(u_\varepsilon) - g(u_0) + h(y_\varepsilon) - h(y_0) + g(u_0) + h(y_0)$, de donde $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq g(u_0) + h(y_0) + g(u_\varepsilon) - g(u_0) + h(y_\varepsilon) - h(y_0)$, así $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 + (g(u_\varepsilon) - g(u_0)) + (h(y_\varepsilon) - h(y_0))$. Pero por Proposición 1, se tiene que:

$$\begin{aligned} J_0 + (g(u_\varepsilon - g(u_0)) + (h(y_\varepsilon) - h(y_0))) & \\ \geq J_0 + g'(u_0)(u_\varepsilon - u_0) & \\ + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0) & \\ = J_0 + g'(u_0)(\varepsilon Ay_\varepsilon + f(y_\varepsilon) - f(y_0)) & \\ + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0) & \\ = J_0 + \varepsilon Ay_\varepsilon g'(u_0) + g'(u_0)(f(y_\varepsilon) - & \\ f(y_0)) + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0). & \end{aligned}$$

Ahora como $F: X \rightarrow R$ definida por: $F(y) = g'(u_0)f(y_0)$ para todo $y \in X$ es

convexa y diferenciable, se tiene que: $g'(u_0)f(y_\varepsilon) - g'(u_0)f(y_0) \geq g'(u_0)f'(y_0)(y_\varepsilon - y_0)$, por Proposición 1.

Luego

$$g'(u_0)(f(y_\varepsilon) - f(y_0)) + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0) \geq (g'(u_0)f'(y_0) + h'(y_0))(y_\varepsilon - y_0) ,$$

entonces por la condición (1),

$$g'(u_0)(f(y_\varepsilon) - f(y_0)) + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0) \geq 0 \text{ y}$$

$J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 + \varepsilon A y_\varepsilon g'(u_0) = J_0 + \varepsilon \langle g'(u_0), A y_\varepsilon \rangle \geq J_0 + \varepsilon \langle A^* g'(u_0), y_\varepsilon \rangle$; ya que $g'(u_0) \in D(A^*)$. Por lo tanto, $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 + \varepsilon A^* g'(u_0) y_\varepsilon = J_0 - O(\varepsilon)$, por ser $\|y_\varepsilon\|_X$ acotada, por (2). Entonces, $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 - O(\varepsilon)$ y $J_\varepsilon \geq J_0 - O(\varepsilon)$.

Observación 3. Supóngase ahora que g y h son funciones estrictamente convexas en el sentido siguiente: existen números positivos r, s y una constante positiva C tal que:

$$(7) \quad g(a + b) - g(a) - g'(a)b \geq C \|b\|_Y^r;$$

para todo $a, b \in Y$

$$(8) \quad h(a + b) - h(a) - h'(a)b \geq C \|b\|_X^s ;$$

para todo $a, b \in X$

Entonces se puede formular el siguiente lema.

Lema 7. Si se verifican las condiciones (7) y (8) y además se cumple que $g'(u_0) \in D(A^*)$, entonces $J_\varepsilon \geq J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s - O(\varepsilon)$.

Demostración. Por la demostración del lema 6, se tiene $J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 + g(u_\varepsilon) - g(u_0) + h(y_\varepsilon) - h(y_0)$. Por las condiciones (7) y (8),

$$g(u_\varepsilon) - g(u_0) \geq C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + g'(u_0)(u_\varepsilon - u_0)$$

y

$$h(y_\varepsilon) - h(y_0) \geq C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s + h'(y_0)(y_\varepsilon - y_0),$$

por lo tanto,

$$J_\varepsilon + |\varepsilon| \geq J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s + g'(u_0)(u_\varepsilon - u_0) + h'(y_0)$$

$$\geq J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s + \varepsilon g'(u_0) A y_\varepsilon$$

$= J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s - O(\varepsilon)$; ya que $g'(u_0) \in D(A^*)$ y $\|y_\varepsilon\|_X$ es acotada. Así que $J_\varepsilon \geq J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r + C \|y_\varepsilon - y_0\|_X^s - O(\varepsilon)$.

Teorema 2(caso especial). Si se verifican las condiciones (7) y (8), además se cumple que $y_0 \in D(A)$ y $g'(u_0) \in D(A^*)$, entonces $J_\varepsilon = J_0 + O(\varepsilon)$; $\|u_\varepsilon - u_0\|_Y = O(\varepsilon^{1/r})$; $\|y_\varepsilon - y_0\|_X = O(\varepsilon^{1/s})$.

Demostración. Como $y_0 \in D(A)$, por Lema 5, $J_\varepsilon \leq J_0 + O(\varepsilon)$, además como se verifican las condiciones (7) y (8), dadas en Observación 3, y $g'(u_0) \in D(A^*)$, entonces por Lema 7 $J_\varepsilon \geq J_0 + C \|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r +$

$C\|y_\varepsilon - y_0\|_X^s - O(\varepsilon)$, de donde por ser $C > 0$, se tiene que:

$$(9) J_0 - O(\varepsilon) \leq J_0 + C\|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r +$$

$$C\|y_\varepsilon - y_0\|_X^s - O(\varepsilon) \leq J_\varepsilon \leq J_0 + O(\varepsilon).$$

Entonces, $J_0 - O(\varepsilon) \leq J_\varepsilon \leq J_0 + O(\varepsilon)$; es decir, $-O(\varepsilon) \leq J_\varepsilon - J_0 \leq O(\varepsilon) \Rightarrow$ existen $C_1, C_2, \varepsilon_1, \varepsilon_2 > 0$, tales que $J_\varepsilon - J_0 \leq C_1|\varepsilon|$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_1$ y $J_\varepsilon - J_0 \geq -C_2|\varepsilon|$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_2 \Rightarrow |J_\varepsilon - J_0| \leq C_3|\varepsilon|$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_3$, donde $\varepsilon_3 = \min(\varepsilon_1, \varepsilon_2)$ y $C_3 = \max(C_1, C_2) \Rightarrow J_\varepsilon - J_0 = O(\varepsilon)$; es decir, $J_\varepsilon = J_0 + O(\varepsilon)$.

Como $C > 0$, se deduce de (9) que:

$$(10) C\|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r \leq O(\varepsilon)$$

$$(11) C\|y_\varepsilon - y_0\|_X^s \leq O(\varepsilon).$$

Luego (10) implica que existen $C_0 > 0$ y $\varepsilon_0 > 0$, tales que $C\|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r \leq C_0|\varepsilon|$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_0$, entonces $\|u_\varepsilon - u_0\|_Y^r \leq \frac{C_0}{C}|\varepsilon|$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_0 \Rightarrow \|u_\varepsilon - u_0\| \leq \left(\frac{C_0}{C}\right)^{1/r}$ si $|\varepsilon| \leq \varepsilon_0$, lo que es equivalente a $\|y_\varepsilon - y_0\|_X = O(\varepsilon^{1/s})$ ($\varepsilon \rightarrow 0$).

CASO GENERAL

Observación 4. Sea una función continuamente diferenciable y supóngase que:

(12) si $B \subset X$ es acotado, implica $f(B) \subset Y$ es acotado. Entonces, se puede enunciar el

siguiente teorema que presenta el caso general del problema.

Teorema 3 (caso general). Si $g'(u_0) \in \overline{D(A^*)}$ y se verifican las condiciones (2) y (12), entonces J_ε tiende a J_0 , cuando $\varepsilon \rightarrow 0$. Si además se cumplen las condiciones (7) y (8), dadas en la Observación 3, entonces $\{u_\varepsilon\}$ y $\{y_\varepsilon\}$ tienden a u_0 e y_0 , de forma respectiva, cuando $\varepsilon \rightarrow 0$.

Demostración. Primero se probará que $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon \leq J_0$, para ello se considera $(z_m)_{m=1}^\infty \subset D(A)$; tal que z_m converge a y_0 en X . Entonces, para todo m fijo, se cumple que:

$$\begin{aligned} \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon &\leq \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J(\varepsilon A z_m + f(z_m), z_m) = \\ &\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} [g(\varepsilon A z_m + f(z_m)) + h(z_m)] \\ &= \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} [g(\varepsilon A z_m + f(z_m)) + g(f(z_m)) \\ &\quad - g(f(z_m)) + h(z_m)] \\ &= \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} [g(f(z_m)) + h(z_m) + g(\varepsilon A z_m \\ &\quad + f(z_m)) - g(f(z_m))] \\ &= \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} [J(f(z_m), z_m) + g(\varepsilon A z_m + \\ &\quad f(z_m)) - g(f(z_m))] = J(f(z_m), z_m), \text{ por} \\ &\text{ser } g \text{ continua. En efecto, se verifica que:} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} g(\varepsilon A z_m + f(z_m)) &= \\ g(\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} (\varepsilon A z_m + f(z_m))) &= g(f(z_m)). \text{ Así} \\ \text{se concluye que: } \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon &\leq J(f(z_m), z_m). \\ \text{Por otro lado, como } g, h \text{ y } f &\text{ son continuas y} \\ z_m \text{ converge a } y_0 \text{ en } X, \text{ se tiene:} & \\ J(f(z_m), z_m) = g(f(z_m)) + h(z_m) & \\ \text{converge a } J(f(y_0), y_0) \text{ con } J(f(y_0), y_0) &= \\ J_0. \text{ Por lo tanto, (13) } \overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon &\leq J_0. \text{ Véase} \end{aligned}$$

ahora que $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon \geq J_0$. Por la demostración del Lema 6, se tiene que $J_\varepsilon + |\varepsilon| - J_0 \geq \varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon$. Luego es suficiente probar que $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon \geq 0$.

Considérese el conjunto $\{z \in D(A^*) / \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*z\|_{X^*} \leq 1\}$, para todo $\varepsilon \in R - \{0\}$.

Como $0 \in D(A^*)$ y $\|A^*0\|_{X^*} = 0$, entonces para todo $\varepsilon \in R - \{0\}$; el número cero es un elemento del conjunto dado. Por lo tanto, este conjunto es no vacío. Entonces, el conjunto

$$\{\|g'(u_0) - z\|_{Y^*} / z \in$$

$$D(A^*) \text{ y } \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*\|_{X^*} \leq 1\}$$
 es no vacío.

Existe, por lo tanto, el $\inf \{\|g'(u_0) - z\|_{Y^*} / z \in D(A^*) \text{ y } \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*\|_{X^*} \leq 1\}$

y

$$\|g'(u_0) - z_\varepsilon\|_{Y^*} \leq |\varepsilon| + \inf \{\|g'(u_0) - z\|_{Y^*} / z \in D(A^*) \text{ y } \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*\|_{X^*} \leq 1\}$$

y el z_ε existe por ser $\|g'(u_0) - z\| \geq 0$, para todo z . Además, $\varepsilon A^*z_\varepsilon$ converge a cero en X^* ,

porque $\|\varepsilon A^*z_\varepsilon\|_{X^*} \leq \sqrt{|\varepsilon|}$ y $\|\varepsilon A^*z_\varepsilon\|$ tienden a cero cuando ε se aproxima a cero.

Como $g'(u_0) \in D(A^*)$, entonces para todo $\delta > 0$, existe $z_\varepsilon \in D(A^*)$ tal que $\|g'(u_0) - z\| < \delta$; para $|\varepsilon|$ suficientemente pequeño, se tiene que $\sqrt{|\varepsilon|} \|A^*z\|_{X^*} \leq 1$. Entonces, para $|\varepsilon|$ suficientemente pequeño

$$\|g'(u_0) - z_\varepsilon\|_{Y^*}$$

$$\leq |\varepsilon|$$

$$+ \inf \{\|g'(u_0) - z\| / z$$

$$\in D(A^*) \text{ y } \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*z\|_{X^*}\}$$

$$\leq |\varepsilon| + \|g'(u_0) - z\| \leq |\varepsilon| + \delta, \text{ con } z \in$$

$$D(A^*) \text{ y } \sqrt{|\varepsilon|} \|A^*z\|_{X^*} \leq 1; \text{ de donde}$$

$$\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|g'(u_0) - z_\varepsilon\|_{Y^*} \leq \delta, \text{ para todo } \delta >$$

0. Por lo tanto,

$$\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|g'(u_0) - z_\varepsilon\|_{Y^*} = 0; \text{ lo cual implica}$$

que $z_\varepsilon \rightarrow g'(u_0)$ en Y^* . Se puede escribir entonces:

$$\varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon = \varepsilon z_\varepsilon Ay_\varepsilon +$$

$$\varepsilon (g'(u_0) - z_\varepsilon)Ay_\varepsilon = \varepsilon (A^*z_\varepsilon)y_\varepsilon +$$

$$\varepsilon (g'(u_0) - z_\varepsilon)Ay_\varepsilon$$

$$\geq -\|\varepsilon A^*z_\varepsilon\|_{X^*} \|y_\varepsilon\|_X - \|g'(u_0) - z_\varepsilon\| \| \varepsilon A^*y_\varepsilon \|_{Y^*}.$$

Ahora, como $\|\varepsilon A^*z_\varepsilon\|_{X^*}$ y $\|g'(u_0) - z_\varepsilon\|_{Y^*}$ tienden a cero cuando ε se aproxima a cero, se debe probar que tanto el $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|y_\varepsilon\|_X$ como el $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|\varepsilon A^*y_\varepsilon\|_{Y^*}$ son finitos.

Se probará que $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|y_\varepsilon\|_X < \infty$.

Sea $h(y_\varepsilon) = J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) - g(u_\varepsilon) < J_\varepsilon + |\varepsilon| - \inf_{v \in Y} g(v)$, pero

$$J_\varepsilon + |\varepsilon| - \inf_{v \in Y} g(v) \leq J(\varepsilon A_0 + f(0), 0) + |\varepsilon| - \inf_{v \in Y} g(v) = g(f(0)) + h(0) + |\varepsilon| - \inf_{v \in Y} g(v).$$

$$\text{Entonces, } h(y_\varepsilon) \leq g(f(0)) + h(0) + |\varepsilon| - \inf_{v \in Y} g(v).$$

Esto muestra que $h(y_\varepsilon)$ es acotado superiormente; luego,

$$\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} h(y_\varepsilon) < \infty, \text{ entonces por la condición}$$

(2), se cumple $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|y_\varepsilon\|_X < \infty$; ya que $(y_\varepsilon) \subset X$. Ahora, como $g(\varepsilon Ay_\varepsilon + f(y_\varepsilon)) = J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) - h(y_\varepsilon) < J_\varepsilon + |\varepsilon| - \inf_{x \in X} h(x) \leq g(f(0)) + h(0) + |\varepsilon| - \inf_{x \in X} h(x)$, entonces

$\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} g(\varepsilon Ay_\varepsilon + f(y_\varepsilon))$ es finito y por la condición (2) $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|\varepsilon Ay_\varepsilon + f(y_\varepsilon)\|$ también es finito; pero como $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|y_\varepsilon\|_X$ es finito, por (12) se tiene que: $\overline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \|\varepsilon Ay_\varepsilon\|$ es finito. De donde, $\varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon \geq 0$ y $\underline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon \geq 0$. Entonces, como $J_\varepsilon + |\varepsilon| - J_0 \geq \varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon$, se tiene que: $0 \leq \underline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} \varepsilon g'(u_0)Ay_\varepsilon \leq \underline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} (J_\varepsilon + |\varepsilon| - J_0)$, por lo tanto:

$$(14) \underline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon \geq J_0.$$

Finalmente, de las condiciones (13) y (14), se concluye que $\underline{\lim}_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon = J_0$ y queda demostrada la primera parte del teorema. Ahora, supóngase que las condiciones (7) y (8) se verifican, entonces por el Teorema 2. $J_\varepsilon = J_0 + O(\varepsilon)$; por lo tanto, $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} J_\varepsilon = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} (J_0 + O(\varepsilon)) = J_0$, de donde se concluye que $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} O(\varepsilon) = 0$. Entonces, $\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} O(\varepsilon^{1/r}) = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} O(\varepsilon^{1/s})$ y aplicando de nuevo el Teorema 2, se tiene que:

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \|u_\varepsilon - u_0\|_Y = 0 = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \|y_\varepsilon - y_0\|_X.$$

De donde se concluye que u_ε converge a u_0 en Y e Y_ε converge a y_0 en X cuando ε se aproxima a cero.

APLICACIÓN (CASO CONCRETO)

A continuación se asume que $u_0 \in \text{int}U_{ad}$ y como $D(A)$ es denso, entonces por la condición (4) $J_0 = \inf\{J(v, z) / v \in U_{ad}, z \in D(A), v = |z|^n\}$. Recuérdese, además, que el adjunto de A es definido como un operador $A^*: L^{r/r-1} \rightarrow L^{rn/rn-1}$.

Lema 8. Para cualquier $1 \leq p < \infty$ existe una constante C_p tal que: $|a + b|^p - |a|^p - p|a|^{p-1} \text{sgn}(a)b \geq C_p|b|^p$, para todo $a, b \in R$. Más aún, $C_p > 0$ si $p \geq 2$.

Demostración. Centeno (1987)

Se considera, ahora, la función $f: L^{2n} \rightarrow L^2$ definida por: $f(z) = z^n + (z + 1)^n, n \in N - \{1\}$, en donde f es continuamente diferenciable en R . Se consideran además, las funciones $g: L^2 \rightarrow R$ y $h: L^{2n} \rightarrow R$; convexas, una vez continuamente diferenciables y acotadas inferiormente, definidas por: $g(v) = l\|v\|_2^2$ y $h(z) = \|z - z_d\|_{2n}^{2n}$, para algún $0 \leq l < \infty$ y $z_d \in R$ fijo, aunque arbitrario, $A: L^{2n} \rightarrow L^2$ un operador lineal con $D(A) \subset L^{2n}$ denso y Ω un espacio medible arbitrario. Además,

$J_\varepsilon = \inf\{J(v, z) / v \in U_{ad}, z \in D(A), v = \varepsilon Az + |z|^n\}$ ($\varepsilon \in R, \varepsilon \neq 0$), donde $U_{ad} \subset L^r$

es el conjunto de los vectores admisibles. Se fijan para cada $\varepsilon \neq 0$ los vectores $u_\varepsilon, y_\varepsilon$ tales que: $u_\varepsilon \in U_{ad}; y_\varepsilon \in D(A); u_\varepsilon = \varepsilon Ay_\varepsilon + |y_\varepsilon|^n$ y $J(u_\varepsilon, y_\varepsilon) \leq J_\varepsilon + |\varepsilon|$.

Considérese $J: L^2 \times L^{2n} \rightarrow R$ una función definida por: $J(v, z) = \|z - z_d\|_{2n}^{2n} + l\|v\|_2^2$. Se mostrará que las funciones f, g, h, J y el operador lineal A , verifican las condiciones de los teoremas 2 y 3, llamados caso especial y caso general, de forma respectiva.

Como $f(z) = z^n + (z + 1)^n$, entonces $J(f(z), z) = \int_\Omega (|z - z_d|^{2n} + l|z^n + (z + 1)^n|^2) dx = I(z)$, para todo $z_d \in R$ y Ω un espacio medible arbitrario. Luego $I'(z) = \left[\int_\Omega (|z - z_d|^{2n} + l|z^n + (z + 1)^n|^2) dx \right]'$, pero $(|z - z_d|^{2n} + l|z^n + (z + 1)^n|^2)' = 2n(z - z_d)^{2n-1} + 2N(z^n + (z + 1)^n)^n (nz^{n+1} + n(z + 1)^{n-1}) = 2n[(z - z_d)^{2n-1} + l(z^n + (z + 1)^{n-1})(nz^{n+1} + n(z + 1)^{n-1})]$. Si se toma z_d muy grande, entonces se tiene lo siguiente: considérese

$$\Delta(z) = (z - z_d)^{2n-1} + l(z^n + (z + 1)^{n-1})(nz^{n+1} + n(z + 1)^{n-1})$$

Si z_d tiende a $+\infty$, entonces como $2n-1$ es impar, se tiene que para todo z , $\Delta(z) < 0$ y si z_d tiende a $-\infty$, entonces $\Delta(z) > 0$, así se tiene que en R , Δ cambia de signo, pero Δ es continua en R , entonces existe por lo menos $z_0 \in R$, tal que $\Delta(z) = 0$, por lo tanto $I'(z) =$

0 ; es decir, $2n \int_\Omega (|z_0 - z_d|^{2n-1} + l|z_0^n + (z_0 + 1)^n||z_0^{n-1} + (z_0 + 1)^{n-1}|) dx = 0$, entonces $2n \int_\Omega |z_0 - z_d|^{2n-1} dx + 2ln \int_\Omega |z_0^n + (z_0 + 1)^n||z_0^{n-1} + (z_0 + 1)^{n-1}| dx = 0$, así $2n\|z_0 - z_d\|_{2n}^{2n-1} + 2ln\|z_0^n + (z_0 + 1)^n\|_2\|z_0^{n-1} + (z_0 + 1)^{n-1}\|_2 = 0$, luego $h'(z_0) + 2l\|(z_0^n + (z_0 + 1)^n)n(z_0^{n-1} + (z_0 + 1)^{n-1})\|_2 = 0$, por lo consiguiente $h'(z_0) + g'(f(z_0))f'(z_0) = 0$, verificándose así la condición (1).

Ahora como $g(v) = l\|v\|_2^2$ y $h(z) = \|z - z_d\|_{2n}^{2n}$ para algún $0 \leq l < \infty$ y $z_d \in R$ fijo pero arbitrario, entonces para cualesquiera $a, b \in R$, se tiene: $g(a + b) = l\|a + b\|_2^2$ y $h(a + b) = \|a + b - z_d\|_{2n}^{2n} = \|a - z_d + b\|_{2n}^{2n}$ y por Lema 8, se tiene a- $\|a + b\|_2^2 - \|a\|_2^2 - 2\|a\|_2 \operatorname{sgn}(a) \cdot b \geq C\|b\|_2^2$, con $C > 0$; como $0 \leq l < \infty$, entonces $l\|a + b\|_2^2 - N\|a\|_2^2 - 2l\|a\|_2 \operatorname{sgn}(a) \cdot b \geq C\|b\|_2^2$, pero $2l\|v\|_2 \operatorname{sgn}(v) = g'(v)$, por lo tanto $g(a + b) - g(a) - g'(a)b \geq C\|b\|_2^2$ con $C > 0$. De manera análoga se tiene que:

$$\|a - z_d + b\|_{2n}^{2n} - \|a - z_d\|_{2n}^{2n} - 2n\|a - z_d\|_{2n}^{2n-1}(\operatorname{sgn}(a - z_d))b \geq C\|b\|_{2n}^{2n}$$

con $C > 0$, pero $h'(z) = 2n\|a - z_d\|_{2n}^{2n-1} \operatorname{sgn}(a - z_d)$. Luego, se tiene que $h(a + b) - h(a) - h'(a) \cdot b \geq C\|b\|_{2n}^{2n}$, con

$C > 0$, entonces por la Observación 3, g y h son funciones estrictamente convexas y además como se cumple que $y_0 \in D(A)$ y $g'(u_0) \in D(A^*)$, se tiene que, por el Teorema 2, $J_\varepsilon = J_0 + O(\varepsilon)$; $\|u_\varepsilon - u_0\|_2 = O(\varepsilon^{1/2})$ y $\|y_\varepsilon - y_0\|_{2n} = O(\varepsilon^{1/2n})$.

Ahora, como $f(z) = z^n + (z + 1)^n$ con $n \in \mathbb{N} \setminus \{1\}$ es una función polinómica, entonces es estrictamente diferenciable y si $B \subset L^{2n}(\mathbb{R})$ es acotada, entonces $f(B) \subset L^2(\mathbb{R})$ es acotado. En esta forma se verifica la condición (12) y como se cumple también que si $(z_k) \in L^{2n}$, $\|z_k\|_{2n}$ tiende a $+\infty$, entonces $h(z_k) = \|z - z_k\|_{2n}^{2n}$ también tiende a $+\infty$. Entonces, por el Teorema 3, se concluye que J_ε se aproxima a J_0 cuando ε tiende a cero.

De esta forma, se ha mostrado que se puede resolver el problema perturbado, cuya solución es J_ε y obtener la solución del problema original, la cual es J_0 , cuando se hace a ε muy próximo a cero; es decir, cuando ε tiende a cero. Entonces $J_\varepsilon \rightarrow J_0$, cuando ε tiende a cero.

Por lo tanto, se puede obtener la solución del problema planteado resolviendo el problema perturbado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENSOUSSAN, A. 1983. Un résultat de perturbations singulières pour systèmes

distribués instables. *CR Acad. Sci. Paris, Sér. I*, 296:469-472.

CENTENO R., M. V. 1987. Perturbación Singular en el Control Óptimo. Tesis de Maestría. Postgrado en Matemáticas. UDO. Venezuela.

CHAMBOLLE, A. 2004. An algorithm for total variation minimization and applications. *J. of Math. Imaging and Vis.* 20(1-2):89-97.

COMSTOCK, C. and Hsiao, G.C. 1976. Singular Perturbations for Difference Equations, Rocky Mountain J. *Maths.* 6(4):561-567.

GIL, M. I. 2008. Introducción a la Teoría de Perturbaciones. Tesis licenciatura en Matemáticas. Universidad de Sonora. Sonora. México.

GUERRA, E. F. 2020. Control óptimo de ecuaciones diferenciales parciales elípticas con términos de costo no convexo del gradiente. Tesis de Ingeniero Matemático. Facultad de Ciencias. Escuela Politécnica Nacional. Quito. Ecuador.

HARAUX, A. and Murat, F. 1983. Perturbations singulieres et problemes de contrôle optimal: un cas mal posé. *CR AcadSci. Sér.1, Mathématique*, 297(2):93-96.

JODAR, L. and Morera, J. L. 1990. Singular perturbations for Systems of Difference Equations. *Applied Maths. Letters* 3(2):51-54,

JODAR, L. y Morera, J. L. 1991. Perturbaciones singulares de problemas de contorno para sistemas acoplados de ecuaciones en diferencias de segundo orden. *Rev. Inter. de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería* 7(2):217-225.

KOMORNIK, V. 1985. Singular perturbations of singular systems. *Acta Sci. Math*, 49(1-4):345-352.

REINHARDT, H.J. 1979. Stability of Singularly Perturbed Linear Difference Equations in Numerical Analysis of Singular Perturbations

Problems P. W. Hemker and J. J. Milier, Eds., Academic Press:485-492.

VARIACIONES SÉRICAS DE CREATININA, UREA Y GLICEMIA ANTES Y DESPUÉS DE LA HEMODIÁLISIS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA DE LA UNIDAD DE DIÁLISIS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE

Serum variations in creatinine, urea and glycemia before and after hemodialysis in patients with chronic kidney disease in the dialysis unit of the Antonio Patricio de Alcalá university hospital in the city of Cumaná, Sucre state

América Belén Vargas Milano¹, William José Velásquez Sanzonetti², Lucemilys Del Carmen Salazar Butto¹, Vanessa Carolina Marín Acuña

¹Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Enfermería, ²Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar las variaciones séricas de creatinina, urea y glicemia antes y después de la hemodiálisis en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) provenientes de la unidad de diálisis del hospital universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Para lograr este objetivo se tomaron muestras sanguíneas de los pacientes antes mencionados, se colocaron en tubos de ensayo sin anticoagulante, se centrifugaron y se obtuvieron los respectivos sueros para realizar las determinaciones de los parámetros bioquímicos creatinina, urea y glicemia. El análisis estadístico *t-Student* arrojó diferencias altamente significativas para los parámetros creatinina, urea y glicemia con valores promedio disminuidos en los individuos nefrópatas, después del proceso hemodialítico. Todo lo anteriormente expuesto pone de manifiesto que en los pacientes con ERC hemodializados se observó un eficiente proceso de hemodiálisis demostrado por las significativas disminuciones de los parámetros creatinina, urea y glicemia.

Palabras claves: Nefropatías, hemodiálisis, creatinina, urea.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate serum variations in creatinine, urea and glycemia before and after hemodialysis in patients with chronic kidney disease (CKD) from the dialysis unit of the “Antonio Patricio de Alcalá” university hospital (HUAPA) from the city of Cumaná, Sucre state. To achieve this objective, blood samples were taken from the aforementioned patients, placed in test tubes without anticoagulant, centrifuged, and the respective serums were obtained to determine the biochemical parameters creatinine, urea, and glycemia. The *t-Student* statistical analysis showed highly significant differences for the parameters creatinine, urea and glycemia with decreased average values in individuals with nephropathy, after the hemodialysis process. All the above shows that in CKD patients on hemodialysis an efficient hemodialysis process was observed, demonstrated by significant decreases in creatinine, urea, and glycemia parameters.

Key words: Nephropathies, hemodialysis, creatinine, urea.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es una patología que viene dada por un descenso progresivo y en muchos casos irreversibles de la filtración glomerular. Sus causas pueden deberse a glomerulonefritis crónica, pielonefritis, enfermedad renal poliquística o pérdida traumática del tejido renal. Este cuadro clínico compromete la función renal por lo que se hace muy importante estar evaluando la función renal (Tortora y Derrickson, 2006; Girndt, 2017; Murton *et al.*, 2021).

La pérdida de la función renal, especialmente cuando se produce de forma crónica, no necesariamente brinda una traducción clínica esperada, dado principalmente por una falta de uniformidad en la definición y clasificación de los diferentes niveles de daño renal; también lo es la ausencia de criterios uniformes a la hora de aplicar unas sencillas fórmulas para su detección y evaluación, y por otro lado, los síntomas de la enfermedad renal bien sea en su etapa aguda y crónica pueden parecerse a los de otros trastornos o problemas médicos, sin olvidar que cada paciente puede experimentarlos de una manera diferente. Por esto, la relevancia de realizar un diagnóstico temprano y oportuno, pudiendo evitar o enlentecer su evolución

lo que permitirá un tratamiento adecuado y respuesta satisfactoria en el paciente (Guyton y Hall, 1997; Charles y Ferris, 2020).

Los pacientes con ERC deben someterse a tratamientos no curativos, altamente invasivos, demandantes y que involucran altos costos para el paciente y su familia, a nivel físico, psicológico, social y económico. Entre los tratamientos de sustitución renal están el trasplante de riñón y la diálisis (peritoneal y hemodiálisis), los cuales deben acompañarse de una dieta estricta (Fridlund *et al.*, 2007; Ammirati, 2020; Wilkinson *et al.*, 2020).

Debido a que la ERC puede progresar, en forma asintomática, a etapas avanzadas, el diagnóstico temprano resulta fundamental para iniciar intervenciones oportunas. Se recomienda una evaluación anual con creatinina sérica, relación albúmina/creatinina en orina y análisis de orina para estos pacientes nefrópatas con factores de riesgo, en particular diabetes mellitus, hipertensión y antecedentes de enfermedad cardiovascular. La creatinina sérica y la albuminuria persistentemente elevadas son características diagnósticas y pronósticas de la ERC (Gaitonde *et al.*, 2017).

La urea es el producto del metabolismo de las proteínas, se forma en el hígado y se elimina por orina a través del riñón, es tóxica para el organismo, además, este compuesto es considerado como un marcador de retención urémica en la ERC y de la adecuación de la excreción de solutos durante el proceso de hemodiálisis, históricamente se ha considerado biológicamente inerte. No obstante, ciertas publicaciones recientes señalan que la urea es tóxica en la ERC, induce cambios moleculares relacionados con la resistencia a la insulina, la producción de radicales libres, la apoptosis y la alteración de la barrera intestinal protectora, es precursora de cianato, amoníaco y compuestos carbamilados, relacionados con desequilibrios biológicos, favorece modificaciones postraduccionales de las proteínas que están vinculadas con la aterogénesis y otros cambios funcionales. Estos hallazgos permiten señalar que la urea se comporta como marcador de adecuación de la diálisis (NKDIGO, 2013; Vanholder *et al.*, 2018).

La evaluación de la glucemia es fundamental para el tratamiento de la diabetes mellitus y otras patologías como ERC ya que el metabolismo de la glucosa y la insulina en pacientes con diabetes se ven

profundamente alterados por la ERC avanzada. El riesgo de hipoglucemia aumenta por falla de la gluconeogénesis renal, alteración del aclaramiento de insulina por el riñón, degradación defectuosa de la insulina debido a la uremia, aumento de la captación de glucosa por parte de los eritrocitos durante la hemodiálisis, alteración de las respuestas hormonales contrarreguladoras (cortisol, hormona del crecimiento), privación nutricional y variabilidad de la exposición. a agentes antihiper glucemiantes orales e insulina exógena. Los pacientes con ERC terminal frecuentemente experimentan variaciones glucémicas amplias, con ocurrencias comunes tanto de hipoglucemia como de hiperglucemia (Galindo *et al.*, 2020; Zelnick *et al.*, 2020; Hassanein y Shafi, 2022).

Las enfermedades cardiovasculares y los niveles de urea constituyen los principales factores de riesgos en los pacientes adulto con ERC. Los niveles de urea aumentados denotan falla renal y los desequilibrios cardiovasculares disminuyen la perfusión renal afectando representativamente su funcionamiento. La eficiencia de la diálisis se estima por el porcentaje de reducción de urea, que debe ser mayor o igual al 65,00%

de manera que la hemodiálisis sea considerada eficiente y de calidad (Alvo *et al.*, 2009; Giardino *et al.*, 2017).

Todo lo anteriormente señalado representa gran parte del basamento teórico para llevar a cabo el presente estudio que tiene como propósito evaluar las variaciones séricas de creatinina, urea y glicemia antes y después de la hemodiálisis en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) provenientes del hospital universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGIA

Muestra poblacional

Para la realización del presente estudio, se analizaron 28 muestras de sangre, provenientes de un grupo de 28 pacientes con ERC, con edades comprendidas entre 20 y 70 años, sometidos a tratamiento de hemodiálisis (10 femeninos y 18 masculinos), de la unidad de diálisis del hospital universitario Antonio Patricio de Alcalá.

Normas de bioética

Este estudio se efectuó bajo estrictas normas de la ética médica, según la declaración de Helsinki y de las Normas Internacionales para la Investigaciones Biomédicas en las Poblaciones Humanas, promulgadas por el Consejo de

Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS, 2002).

Obtención de las muestras

A cada uno de los pacientes con ERC, se le extrajeron 10,00 mL de sangre completa por punción venosa con jeringas estériles descartables, bajo estrictas condiciones de asepsia. Una vez obtenidas las muestras, se colocaron en tubos de ensayo estériles sin anticoagulante y se dejaron en reposo por un tiempo de 5 a 10 minutos, a temperatura ambiente, luego, las muestras se centrifugaron a 3 000 rpm por 10 minutos para la obtención de los respectivos sueros sanguíneos. Posteriormente, se procedió a su procesamiento con el fin de determinar las concentraciones de los parámetros creatinina, urea y glicemia, por procedimientos espectro-colorimétricos.

En todos los casos se tomaron las medidas preventivas para evitar realizar determinaciones en sueros hemolizados e hiperlipémicos que pudieran aportar resultados no confiables en los parámetros cuantificados (Mayes, 1990).

Técnicas empleadas

Determinación de la concentración sérica de creatinina

La valoración de la concentración de creatinina se realizó por la metodología de Jaffé, la cual se fundamenta en la reacción

de este compuesto con la solución de picrato en medio alcalino, obteniéndose picrato de creatinina, complejo coloreado que puede ser medido espectrofotométricamente a 510 nm (Jaffé, 1986; Henry, 2007). Valores de referencia: Suero y plasma: Hombres: (0,90 – 1,30) mg/dL; Mujeres: (0,60 – 1,10) mg/dL (Fabiny y Ertingshausen, 1971; Bernard, 1985).

Determinación de la concentración sérica de urea

La determinación de la concentración sérica de urea se realizó por la metodología de la enzima ureasa. Este método se fundamenta en que la enzima ureasa hidroliza la urea en dióxido de carbono y amoníaco, el cual es determinado cuantitativamente por la reacción glutamato-dinucleótido de nicotina adenina reducido. La disminución de la absorbancia, debida a la oxidación del dinucleótido de nicotina adenina oxidado se mide a 340 nm, y es directamente proporcional a la concentración de urea presente en la muestra. Valores de referencia: (15,00 – 39,00) mg/dL (Lawrence *et al.*, 2001; Henry, 2007).

Determinación de la concentración sérica de glucosa

Este parámetro se cuantificó por el método de la glucosa oxidasa, el cual se basa en la oxidación de la glucosa a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y ácido glucónico, catalizada por la actividad de la enzima glucosa oxidasa, y en la reacción de Trinder modificada, en presencia de la enzima peroxidasa. La peroxidasa cataliza la oxidación del cromógeno 4-aminoantipirina (4-AAP) e hidroxibenzoato, por el H_2O_2 , para producir una coloración roja de quinoneimina. La intensidad de color de la reacción, medida a 520 nm, es directamente proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra sanguínea (Trinder, 1969). Valores de referencia: (70,00 – 105,00) mg/dL (Henry, 2007).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron sometidos al análisis estadístico *t-Student* con el propósito de establecer las posibles diferencias significativas en los parámetros creatinina, urea y glicemia en los pacientes con ERC antes y después del tratamiento hemodialítico al que fueron sometidos. La toma de decisiones se realizó a un nivel de confiabilidad del 95% (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los resúmenes de la prueba estadística *t-Student* aplicada a los valores promedio de las concentraciones del parámetro sérico creatinina cuantificada, antes y después del

sometimiento a hemodiálisis, en pacientes con ERC. Se observan diferencias altamente significativas con valores promedio de creatinina disminuidos en los pacientes con ERC después de la hemodiálisis.

Tabla 1. Resumen estadístico de la prueba *t-Student* aplicada a los valores promedio del parámetro sérico creatinina (mg/dL) cuantificados, antes y después del proceso de hemodiálisis, en pacientes con enfermedad renal crónica provenientes de la unidad de diálisis del HUAPA de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Parámetros	n	Intervalo	\bar{X}	DE	<i>t</i>
Creatinina					
PERCAHD	28	4,25 – 10,90	5,90	0,90	17,57***
PERCDHD	28	0,50 – 2,80	1,70	0,70	

PERCAHD: pacientes con enfermedad renal crónica antes de la hemodiálisis; PERCDHD: pacientes con enfermedad renal crónica después de la hemodiálisis; \bar{X} : media; DE: desviación estándar; *t*: prueba de *t-Student*; ***: diferencias altamente significativas ($p < 0,001$)

Los resultados que se observan en la evaluación de las concentraciones de creatinina en los pacientes con ERC antes y después del proceso de hemodiálisis, en la que se observan disminuciones de los niveles de creatinina después del proceso hemodialítico pueden explicarse señalando que estas disminuciones pueden ser debidas a la recuperación, en forma significativa de la función renal llevada a cabo por el proceso de hemodiálisis, dado que la misma se encuentra deteriorada por el daño renal significativo e irreversible que conlleva a la incapacidad del riñón de aclarar la creatinina

(Villarroel *et al.*, 2009; Harada *et al.*, 2020; Ragi *et al.*, 2023).

El resumen estadístico de la prueba *t-Student* aplicada a las concentraciones de urea, cuantificadas en individuos con ERC antes y después del tratamiento hemodialítico, se muestra en la Tabla 2. En la misma se visualizan diferencias altamente significativas con valores promedio de urea disminuidos en los individuos con ERC luego de ser sometidos al proceso de hemodiálisis.

Tabla 2. Resumen estadístico de la prueba *t-Student* aplicada a los valores promedio del parámetro séricourea (mg/dL) cuantificados, antes y después del proceso de hemodiálisis, en pacientes con enfermedad renal crónica provenientes de la unidad de diálisis del HUAPA de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Parámetros	n	Intervalo	\bar{X}	DE	t
Urea					
PERCAHD	28	51,00 – 131,00	89,00	8,00	85,19***
PERCDHD	28	2,00 – 39,00	17,00	12,00	

PERCAHD: pacientes con enfermedad renal crónica antes de la hemodiálisis; PERCDHD: pacientes con enfermedad renal crónica después de la hemodiálisis;

\bar{X} : media; DE: desviación estándar; t: prueba de *t-Student*; ***: diferencias altamente significativas ($p < 0,001$)

Los resultados obtenidos en el presente estudio con relación a las concentraciones de urea en los pacientes con ERC, antes y después de la hemodiálisis permiten visualizar el significativo efecto depurante de la urea que ejerció el proceso de diálisis en la sangre de los pacientes con ERC analizados después del proceso de diálisis al que fueron sometidos, es decir, se observa un significativo aclaramiento plasmático ayudado mecánicamente por el procedimiento de hemodiálisis llevado a cabo en los pacientes nefrópatas analizados en este estudio (Villarroel *et al.*, 2009; Torrez *et al.*, 2010; Yamamoto *et al.*, 2021). Los resultados de la determinación del parámetro urea obtenidos en la presente investigación guardan concordancia con los hallazgos de Fridlund *et al.*, (2007) y García y Vázquez,

(2010), quienes señalan que las concentraciones de urea post-hemodiálisis deben disminuir de un 30,00% a un 60,00% y que la calidad de la diálisis se estima por el porcentaje de reducción de urea, que debe ser mayor o igual al 65,00%.

En la Tabla 3 se señala el resumen de la prueba estadística *t-Student* aplicada a las concentraciones promedio del parámetro sanguíneo glucosa en los pacientes con ERC analizados en esta investigación, antes y después de la hemodiálisis a la que fueron sometidos. Se evidencian diferencias altamente significativas con concentraciones de glicemia disminuidas en los pacientes nefrópatas antes mencionados.

Tabla 3. Resumen estadístico de la prueba *t-Student* aplicada a los valores promedio del parámetro sérico glucosa (mg/dL) cuantificados, antes y después del proceso de hemodiálisis, en pacientes con enfermedad renal crónica provenientes de la unidad de diálisis del HUAPA de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Parámetros	n	Intervalo	\bar{X}	DE	<i>t</i>
Glucosa					
PERCAHD	28	81,00 – 159,00	119,00	19,00	17,54***
PERCDHD	28	74,00 – 129,00	102,00	7,00	

PERCAHD: pacientes con enfermedad renal crónica antes de la hemodiálisis; PERCDHD: pacientes con enfermedad renal crónica después de la hemodiálisis;

\bar{X} : media; DE: desviación estándar; *t*: prueba de *t-Student*; ***: diferencias altamente significativas ($p < 0,001$)

Estos resultados pueden ser explicados argumentando que, probablemente, el proceso hemodialítico estimula el funcionamiento de las células β de los islotes de Langerhans de estos pacientes y produjo incrementos en la secreción de insulina, la cual regula los niveles séricos de glucosa en la sangre de estos pacientes después del tratamiento con hemodiálisis (Gai *et al.*, 2014; Enes *et al.*, 2015). Resulta pertinente señalar que estas disminuciones de las concentraciones de glicemia, después del proceso hemodialítico ayudan a estos pacientes con ERC a prevenir alteraciones en la paredes de las arterias, que pueden ocasionar que la sangre no fluya adecuadamente a los tejidos y con ello provocar trastornos en la estructura de órganos como, el riñón, principalmente, en el glomérulo, con engrosamiento de la membrana basal y

evolución posterior a la glomerulosclerosis (González *et al.*, 2001; Gai *et al.*, 2014; Enes *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Los pacientes con ERC hemodializados analizados en la presente investigación experimentaron disminuciones significativas de los parámetros séricos creatinina, urea y glucosa después de ser sometidos al proceso de hemodiálisis

Los pacientes con ERC hemodializados analizados en la presente investigación experimentaron un eficiente proceso de hemodiálisis demostrado por las significativas disminuciones de los parámetros creatinina, urea y glicemia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVO, M., Borja, H., Flores, J., Morales, J., Vega, J. y Zuniaga, C. 2009. Enfermedad renal crónica: clasificación, identificación, manejo y complicaciones. *Rev. Med. Chile.* 137(2):137-177.
- AMMIRATI, A. 2020. Chronic kidney disease. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 66(1):s03-s09.
- BERNARD, J. 1994. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Editorial Marín. Madrid, España.
- CHARLES, C. y Ferris, A. 2020. Chronickidneydisease. *Prim Care.* 47(4):585-595.
- CIOMS. 2002. Pautas éticas internacionales para la investigación biométrica en seres humano.
- ENES, P., Martín-Frías, M., Álvarez, M., Yelmo, R., Alonso, M. and Barrio, R. 2015. Achievement of metabolic control goals set by the American diabetes association and the international society for pediatric and adolescent diabetes in pediatric patients with type 1 diabetes from Spain. *Res. Clin. Pract.* 107(2):300-305.
- FABINY, D.L. and Ertingshausen, G. 1971. Autonaled section –rate method for determination of serum creatinine with the centrifichem. *Pubmed.* 17(8):696-700.
- FRIDLUND, B., Lidell, E. and Ziegert, K. 2007. Professional support for next of kin of patients receiving chronic haemodialysis treatment: a content analysis study of nursing documentation. *J. Clin. Nurser.* 23(1):133-135.
- GAI, M., Merlo, I., Dellepiane, S., Cantaluppi, V., Leonardi, G., Fop, F., Guarena, C., Grassi, G. and Biancone, L. 2014. Glycemic pattern in diabetic patients on hemodialysis: continuous glucose monitoring (CGM) analysis. *Blood Purif.* 38(1):68-73.
- GAITONDE D., Cook D. and Rivera I. 2017. Chronic kidney disease: Detection and evaluation. *Am. Fam. Physician.* 96(12):776-783.
- GALINDO, R., Beck, R., Scioscia, M., Umpierre, Z.G. and Tuttle, K. 2020. Glycemic monitoring and management in advancedchronic kidney disease. *Endocr. Rev.* 41(5):756-774.
- GARCÍA, R. y Vázquez, M. 2010. Plan de cuidados al paciente oncológico y/o hematológico en la consulta de pruebas especiales del laboratorio de análisis clínicos. *Rev. Paraninfo.* 10(4):75-81.
- GIRARDINO, I., D'Apolito, M., Brownlee, M., Maffione, A., Colian, A., Sacco, M., Ferrara, P. and Pettoello-Mantovani, M. 2017. Vascular toxicity of urea, a new "old player" in the pathogenesis of chronic renal failure induced cardiovascular diseases. *Turk. Pediatri. Ars.* 52(4):187-193.
- GIRNDDT, M. 2017. Diagnosis and treatment of chronic kidney disease. *Internist (Berl).* 58(3):243-256.
- GONZÁLEZ, E., Ortiz, M. y Praga, M. 2001. Diabetes y riñón: predictores de nefropatías y factores de progresión. *Nefrología.* 11(3):15-17.
- GUYTON, A. y Hall, J. 1997. Tratado de fisiología médica. 9^{na} Edición, Mc Graw-Hill. Madrid, España.

- HARADA, T., Sorimachi, H., Obokata, M., Sunaga, H., Ishida, H., Ito, K., Ogawa, T., Ando, Y., Kurabayashi, M. and Negishi, K. 2020. The relationship between antecedent creatinine decreases and outcomes in patients undergoing hemodialysis. *Hemodial. Int.* 24(1):89-98.
- HASSANEIN, M. y Shafi, T. 2022. Assessment of glycemia in chronic kidney disease. *BMC Med.* 20(1):117
- HENRY, J. 2007. El laboratorio en el diagnóstico clínico. MarbaánLibrod, S.L., Madrid, España.
- JAFFÉ, M. 1986. Creatinine. *Physiol. Chem.* 10:391.
- LAWRENCE, M., Stephen, J. y Maxine, A. 2001. Diagnóstico clínico y tratamiento. 36^{va} Edición, Editorial el Manual Moderno, México.
- MAYES, G. 1990. Interpretación clínica de laboratorio. Editorial Médica Panamericana LTDH, Bogotá,
- MURTON, M., Goff-Leggett, D., Bobrowska, A., Garcia, J., James, G., Wittbrodt, E., Nolan, S., Sörstadius, E., Pecoits-Filho, R. and Tuttle, K. 2021. Burden of Chronic Kidney Disease by KDIGO Categories of Glomerular Filtration Rate and Albuminuria: A Systematic Review. *Adv. Ther.* 38(1):180-200.
- NKDIGO, 2013. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 99(3):S1-S87.
- RAGI, N., Pallerla, P., Babi Reddy Gari, A., Lingampelly, S., Ketavarapu, V., Addipilli, R., Chirra, N., Kantevari, S., Yadla, M. and Sripadi, P. 2023. Assessment of uremic toxins in advanced chronic kidney disease patients on maintenance hemodialysis by LC-ESI-MS/MS. *Metabolomics.* 19(3):14.
- SOKAL, R. y Rohlf, J. 1979. Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. 1^{ra} Edición, EditorialBlume. Madrid, España.
- TORREZ, J., Torrez, J., Patiño, J., Gutiérrez, J. y Pereira, M. 2010. Tasa de reducción de la urea como marcador de adecuación en pacientes del H.O. N^o2 C.N.S. *Gac. Med. Bol.* 33(1):17-22.
- TORTORA, G. y Derrickson, B. 2006. Principios de anatomía y fisiología. 11^{va} Edición. Editorial Médica Panamericana. México.
- TRINDER P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternati veoxy gen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6: 24-27.
- VANHOLDER, R., Gryp, T. y Glorieux, G. 2018. Urea and chronic kidney disease: the comeback of the century? (inuraemiare search). *Nephrol. Dial. Transplant.* 33(1):4-12.
- VILLARROEL, M., Medrano, M., Gómez, M., Hinojosa, M. y Villca, Y. 2009. Valoración del paciente pre y post hemodializados con la determinación de urea y creatinina. *Rev Invest. Inform. Salud:*23-31.
- WILKINSON, T., McAdams-DeMarco, M., Bennett, P. and Wilund, K. 2020. Global renal exercise network. *Advances*

in exercise therapy in predialysis chronic kidney disease, hemodialysis, peritoneal dialysis, and kidney transplantation. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 29(5):471-479.

YAMAMOTO, S., Matsuzawa, R., Hoshi, K., Suzuki, Y., Harada, M., Watanabe, T., Isobe, Y., Imamura, K., Osada, S., Yoshida, A., Kamiya, K. and Matsunaga, A. 2021. Modified creatinine index and clinical outcomes of hemodialysis

patients: An indicator of sarcopenia? *J. Ren. Nutr.* 31(4):70-379.

ZELNICK, L., Batacchi, Z., Ahmad, I., Dighe, A., Little, R., Trence, D., Hirsch, I. y de Boer, I. 2020. Continuous glucose monitoring and use of alternative markers to assess glycemia in chronic kidney disease. *Diabetes Care.* 43(10):2379-2387.

CARACTERIZACIÓN DE LEUCOCITOS EN JUVENILES DE CACHAMOTO (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) EN CONDICIONES DE CULTIVO

Characterization of leukocytes in juveniles of cachamoto (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) under culture conditions

Yanet Anton-Marín^{1*}, Claudysbel Hernández-Amundarain², Raquel Salazar-Lugo³
^{1,2,3}Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, ^{1,3}Postgrado de
Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.
*¹yanetanton2019@gmail.com; ²claudydelvalle@gmail.com; ³rsalazarlugo50@gmail.com

RESUMEN

Esta investigación muestra la caracterización morfológica y citoquímica de los leucocitos en sangre periférica de juveniles del híbrido cachamoto (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*). Se analizaron 30 peces, a los cuales se les extrajo sangre mediante punción de la vena caudal a nivel del arco hemal para la ejecución de las técnicas de caracterización. Para las características morfológicas se usó la tinción de Giemsa; los 6 tipos de células halladas se clasificaron como células heterófilas de los tipos neutrófilos, eosinófilos, y basófilos; células semejantes a los linfocitos, células monocíticas, y trombocitos, se encontraron diferencias morfológicas marcadas con respecto a los heterófilos del tipo eosinófilos, donde se evidenciaron dos tipos de gránulos con características tintoriales diferentes, unos de color naranja intenso, y otros de color púrpura intenso. Para la caracterización citoquímica se utilizaron las técnicas de coloración de ácido peryódico de Schiff, negro de Sudán, negro amido y mieloperoxidasas. Para glucógeno dieron positivos los heterófilos del tipo neutrófilos y los del tipo eosinófilos; para lípidos dieron positivo todas las células heterófilas, para proteínas todas las células resultaron positivas, y para mieloperoxidasa, mostraron reacción positiva los heterófilos del tipo neutrófilos y los del tipo eosinófilos. Este estudio proporciona conocimientos importantes para monitoreos de tipo ambiental en este organismo, lo cual ayudaría a establecer un control sanitario para asegurar la salud de estos peces en los cultivos, así mismo estos hallazgos permiten deducir cuales son los constituyentes celulares del sistema inmune innato, sirviendo como un importante estudio base para futuras investigaciones.

Palabras clave: Cachamoto, PAS, negro amido, leucocitos

ABSTRACT

This research shows the morphological and cytochemical characterization of leukocytes in peripheral blood of juveniles of the cachamoto hybrid (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*). A total of 30 fish were analyzed, from which blood was extracted by puncture of the caudal vein at the level of the hemal arch for the execution of characterization techniques. For morphological characteristics, Giemsa staining was used; The 6 types of cells found were classified as heterophilic cells of the neutrophil, eosinophil, and basophil types; cells similar to lymphocytes, monocytic cells, and thrombocytes, marked morphological differences were found with respect to heterophils of the eosinophil type, where two types of granules with different staining characteristics were evident, some of an intense orange color, and others of an intense purple color. For cytochemical characterization, periodic acid-Schiff, Sudan black, amido black, and myeloperoxidases staining techniques were used. For glycogen, heterophils of the neutrophil type

and those of the eosinophil type were positive; all heterophil cells were positive for lipids, all cells were positive for proteins, and for myeloperoxidase, neutrophil type, and eosinophil type heterophils showed a positive reaction. This study provides important knowledge for environmental monitoring in this organism, which would help to establish a sanitary control to ensure the health of these fish in the cultures, likewise these findings allow us to deduce which are the cellular constituents of the innate immune system, serving as an important baseline study for future research.

Key words: Cachamoto, PAS *amido black*, leukocytes

INTRODUCCIÓN

En peces, los estudios hematológicos revisten suma importancia ya que permiten evaluar el estado de salud general de estos organismos. Determinar los factores que inciden sobre el bienestar de los peces es prioritario; encontrándose dentro de esos factores la interacción que existe entre los nutrientes y la presencia o no de tóxicos, así como las potenciales alteraciones causadas por dichos tóxicos y por la presencia de agentes patógenos, elementos todos que se ven reflejados por algún grado de inmunosupresión y/o alteración de los elementos constituyentes de la sangre (Alayeh-Rahy y Morales-Palacios, 2013; Salazar-Lugo *et al.*, 2020; Kanu *et al.*, 2023).

Dentro de los componentes formes de la sangre de los peces, se encuentran los hematíes, los cuales son las células sanguíneas más abundantes; luego, se hallan los leucocitos y los trombocitos, considerándose estos últimos, equivalentes a las plaquetas de los mamíferos. Los

leucocitos, son células fundamentales del sistema inmune, de allí la importancia de conocer, de manera precisa, la morfología, así como de los tipos celulares predominantes en los diferentes estadios de desarrollo de los peces, estos factores son de gran utilidad en acuicultura ya que contribuyen a valorar y monitorear el estado de salud de estos organismos, asociados, por supuesto, a las diferentes evaluaciones hematológicas (Valenzuela *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2008; Salazar-Lugo *et al.*, 2020).

En los peces, la clasificación de los leucocitos, al igual que en todos los vertebrados, se ha realizado por criterios morfológicos, utilizando como modelo base, los de los mamíferos, tratando de ajustar la clasificación de las células de estos organismos acuáticos a la ya establecida de los leucocitos de los mamíferos. Es por esta razón que en general se distinguen cinco tipos: tres de ellos contienen abundantes gránulos citoplasmáticos específicos y son llamados granulocitos neutrófilos, eosinófilos y basófilos, mientras que los otros dos tipos

no presentan gránulos citoplasmáticos y son llamados agranulocitos, y comprenden los linfocitos y monocitos (Sardar *et al.*, 2000; Haugland *et al.*, 2012), también se pueden encontrar trombocitos, considerados equivalentes a las plaquetas (Uribe *et al.*, 2002; Beelen *et al.*, 2003).

Los neutrófilos exhiben una respuesta actividad fosfatasa ácida ante patógenos (Katzenback y Belosevic, 2009). Entre sus funciones están la fagocitosis y la actividad microbicida, además de intervenir en la mediación de la respuesta inflamatoria actuando como células presentadoras de antígenos (Hine, 1992; Cuesta *et al.*, 2006; Litman y Cannon, 2009; Overland *et al.*, 2010). Así mismo, se cree que juegan un papel clave en la iniciación y el mantenimiento de la respuesta adaptativa (Leknes, 2007; Hanington *et al.*, 2009).

Los eosinófilos, por su parte, se han descrito como células redondas, con un núcleo a veces bilobulado, el citoplasma presenta gránulos que se tiñen de color rojo-naranja (Correa-Negrete *et al.*, 2009). No hay dudas de su presencia en ciprínidos; sin embargo, en salmónidos, son de aparición rara o ausentes (Ellis, 1977). No obstante, se hallan células eosinófilas en el tejido conectivo, sobre todo en el tracto gastrointestinal, branquias, corazón y piel; no está clara su función, pero

se sabe que intervienen en la inflamación y en la defensa celular mediante desgranulación, se les vincula con procesos de inflamación bacteriana. En algunas especies de elasmobranquios son abundantes en el intestino, lo cual explicaría su posible función en la inmunidad contra bacterias, así mismo su elevada manifestación (eosinofilia) está asociada a la ocurrencia parasitaria, según las observaciones de Martins *et al.* (2004) en *Leporinus macrocephalus* y Ranzani-Paiva (1999) en *Piaractus mesopotamicus* y *Collossoma macropomun*.

Los basófilos de peces semejan a los basófilos y mastocitos de los mamíferos, poseen citoplasma basófilo y presentan grandes gránulos, que generalmente, no dejan ver el núcleo, son escasos y raros en sangre periférica en la mayoría de las especies estudiadas (Olabuenaga, 2000).

La utilización de técnicas de microscopía óptica permite conocer las características morfológicas de los tipos celulares leucocitarios. Una de las herramientas más utilizadas es la coloración de Giemsa, con la cual se pueden distinguir los componentes celulares según su afinidad por los colorantes básicos, ácidos o una mezcla entre ellos (Garrido *et al.*, 2003). De igual forma, las coloraciones histoquímicas, permiten conocer las características citoquímicas de las

células, constituyéndose en elementos indispensables para establecer la presencia en el interior de estas, de ciertos componentes bioquímicos como son el glucógeno, los lípidos, las proteínas y las enzimas, permitiendo una evaluación más precisa de la distribución espacial y temporal de los leucocitos (Petrie-Hanson y Ainsworth, 1999).

Dentro de los métodos histoquímicos se encuentra la coloración de glucógeno, también llamada reacción del ácido peryódico-reactivo de Schiff o reacción de PAS (por sus siglas en inglés), con la cual se pueden identificar los neutrófilos y los eosinófilos, ya que colorea de rojo púrpura al glucógeno presente en el citoplasma de estas células, mientras que en los linfocitos se evidencia una reacción negativa y en los monocitos puede aparecer una reacción poco acentuada, la identificación del glucógeno en las células sanguíneas es importante, pues su presencia está íntimamente ligada al abastecimiento de energía para la realización de la fagocitosis (Prophet *et al.*, 1995).

El método de tinción Negro de Sudán B se utiliza en la demostración histoquímica de gránulos neutrófilos y células mieloides, expresando la presencia de lípidos, incluyendo las grasas neutras y los esteroides, que quedan teñidos de color marrón (Garrido

et al., 2003). Las reservas adecuadas de lípidos son necesarias por los organismos para mediar los efectos del estrés y para servir como almacenadores intermediarios de la energía durante períodos de condiciones ambientales adversas o de falta prolongada de alimentos (Silveira-Coffigny *et al.*, 2005).

Otro método histoquímico es la coloración de la mieloperoxidasa (Kaplow, 1965). Con ésta se logra la diferenciación de los granulocitos del resto de las células; aquellos organelos que poseen la enzima mieloperoxidasa desprenden oxígeno proveniente del peróxido de hidrógeno y éste oxida la bencidina a un óxido intermedio de color azul oscuro, lo que permite la visualización de gránulos peroxidasa positivo presentes en el citoplasma celular. Los linfocitos, trombocitos y eritrocitos, presenta una reacción negativa a esta tinción (Conroy, 1998). Y finalmente el método de coloración de proteínas con negro amido, el cual colorea de azul intenso los lugares donde se encuentran las proteínas básicas (Túnez-Fiñana, 2014).

En Venezuela dos de las especies de peces de mayor relevancia para la piscicultura continental son la cachama (*Colossoma macropomum*) y el morocoto (*Piaractus brachypomus*) y su híbrido (*C. macropomum* x *P. brachypomus*) conocido como

cachamoto (Romero, 2012). El morocoto (*P. brachypomus*) y la cachama (*C. macropomum*), pertenecen al orden Characiformes, familia Serrasalminidae, y pueden distinguirse a simple vista por el colorido de su cuerpo, el morocoto presenta un color grisáceo a pardo sobre el dorso y los laterales, con el abdomen blanquecino salpicado de pequeñas manchas anaranjadas, mientras que la cachama puede presentar dos patrones de coloración: amarillo y negro, con toda la gama de variantes (Poleo *et al.*, 2011).

El cachamoto es un híbrido resultado de un cruce entre la especie cachama negra (*C. macropomum*) y el morocoto o cachama blanca (*P. brachypomus*), el cual presenta características fenotípicas muy marcadas de esta última. Cuenta con una alta tasa de crecimiento y con una adecuada alimentación, mejora el rendimiento, la apariencia y la calidad de la carne, obteniéndose una buena presentación del espécimen para la venta. La etapa de engorde de esta especie es realizada, bajo diferentes densidades de siembra, en lagunas de tierras, estanques de concreto y en jaulas flotantes, y es cultivada de manera intensiva en los ríos Orinoco y Caroní, hallándose en aguas con rangos de temperaturas de 23,00 °C - 30,00°C; tiene una alimentación omnívora;

crecimiento acelerado y sabor agradable, lo que lo hace una alternativa ventajosa tanto para los consumidores como para los cultivadores. El cachamoto abastece de alimento al mercado nacional; su cultivo, se ha desarrollado notablemente mediante la reproducción artificial o inducida, multiplicándose así su comercialización (López y Anzoátegui, 2013).

Existen trabajos en los cuales se evalúan la caracterización morfológica y citoquímica de las células sanguíneas en *C. macropomum*, y en ese sentido sobresale el estudio realizado por Salazar-Lugo *et al.* (2012), quienes hicieron la caracterización morfológica y citoquímica de leucocitos en juveniles de cachama negra. No obstante debe señalarse que, no se han realizado estudios que caractericen las células blancas de la especie híbrida cachamoto, ni morfológica ni citoquímicamente.

En base a lo anteriormente expuesto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la morfología y las características citoquímicas de los leucocitos de esta especie híbrida en condiciones de cultivo, lo que además de aportar conocimientos e información básica de la especie, contribuirá al establecimiento de controles sanitarios adecuados, constituyéndose en una herramienta de gran utilidad para evaluar el estado de salud de esta

especie, al mismo tiempo que puede establecerse este organismo, como un medio de vigilancia epidemiológica para monitoreos de tipo ambiental, lo cual ayudará a garantizar la salud de estos peces cuando estén en confinamiento, asegurando cultivos sanos; así mismo, se constituirá en un estudio línea base para futuras investigaciones sobre el tema, ya que se trata de un estudio pionero en esta especie.

METODOLOGÍA

Organismos

Se utilizaron 30 ejemplares juveniles del híbrido Cachamoto (*C. macropomum* x *P. brachypomus*), los cuales fueron facilitados por el Instituto Nacional de Investigación Agrícolas (INIA), procedentes de cultivos artificiales de la localidad de Cariaco, estado Sucre, con medidas promedio de 23,60 cm \pm 6,36 cm y con pesos de 281,60 g \pm 64,62 g. Los organismos fueron capturados utilizando la técnica de pesca conocida como chinchorrazo, para la cual se empleó una malla de 0,50 cm de diámetro aproximadamente. Los peces fueron transportados hasta el Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad del Postgrado en Biología Aplicada de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Aclimatación, manejo y mantenimiento

La aclimatación de los ejemplares se realizó por un período de 48 horas. Los peces, fueron ubicados en 6 bolsas de polietileno con oxígeno (a razón de 5 peces por cada bolsa), debidamente selladas y transportadas al laboratorio anteriormente citado. Las bolsas plásticas con los organismos en su interior se colocaron en 3 acuarios de vidrio (10 organismos por acuario), de medidas 60,00 x 30,00 cm y con capacidad para 60,00 L de agua, aireada y libre de cloro, por un tiempo aproximado de 30 minutos para lograr su aclimatación; Posteriormente, los peces fueron liberados poco a poco de las bolsas, y colocados en el agua de los acuarios, los cuales se cubrieron con bolsas negras con la finalidad de minimizar el estrés de los organismos. Se les efectuó la limpieza diariamente, con el recambio del 80,00 % del agua, manteniéndose ésta oxigenada mediante un sistema de aireación, el cual estaba compuesto por aireado res y piedras difusoras de oxígeno, de igual manera, el agua de los acuarios se mantuvo a una temperatura entre 24,00 °C -25,00°C.

Toma de muestras sanguíneas

Cumplidas las 48 horas, se tomaron las muestras mediante punción de la vena caudal a nivel del arco hemal, siguiendo la técnica descrita por Blanco (2004); utilizando jeringas desechables de 3,00 mL con agujas

de 21,00 G (0,80 mm) x 38,00 mm; previamente impregnadas con heparina sódica comercial (1000 UI/ml).

Coloración de frotis sanguíneos

Los extendidos (4 frotis para cada técnica de coloración), se realizaron inmediatamente después de la toma de muestra utilizando el método del extendido según Lynch *et al.* (1977), observándose con objetivo de 100X. Los elementos celulares se identificaron utilizando criterios morfológicos definidos por Correa-Negrete *et al.* (2009) para el blanquillo *Sorubim cuspidus*, así como los de Salazar-Lugo *et al.* (2012) y Antón-Marín (2014) para *C. macropomum*. Se utilizó la coloración de Giemsa para realizar la descripción, reconocimiento y determinación parcial de las características morfológicas de los leucocitos, modificado por Antón-Marín, (2014).

Coloraciones citoquímicas

Estas coloraciones se usaron para detectar la presencia en las células blancas de glucógeno (ácido peryódico de Schiff o PAS por sus siglas en inglés), de lípidos (tinción con negro de Sudán B), de la enzima mieloperoxidasa (coloración de mieloperoxidasa modificada) y de proteínas (coloración de negro amido), lo que permitió caracterizar citoquímicamente a los glóbulos blancos. Finalmente, los análisis

microscópicos de las muestras de sangre coloreadas se hicieron a partir de micrografías tomadas con un fotomicroscopio marca Zeiss, modelo FL 40. El análisis de las micrografías tomadas de las láminas fue realizado con el programa Adobe Photo Deluxe. Al momento de tomarse las fotos, se les realizaron mediciones a las células.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el método de coloración de Giemsa y haciendo uso de microscopía óptica, se pudieron identificar, morfológicamente, los diferentes tipos de leucocitos de la especie híbrida estudiada. Las mismas, fueron clasificadas según los criterios anteriormente señalados, en: células heterófilas, células semejantes a los linfocitos, células monocíticas y trombocitos.

Células heterófilas: en este grupo de células se incluyen a los heterófilos del tipo neutrófilos, heterófilos del tipo eosinófilos y del tipo basófilos.

Heterófilos del tipo neutrófilos: se observaron como células redondas, de 6,00 μm -12,00 μm de diámetro (figura 1). Poseen un núcleo de color azul intenso, generalmente excéntrico de forma redondeada, y en ocasiones arriñonado.

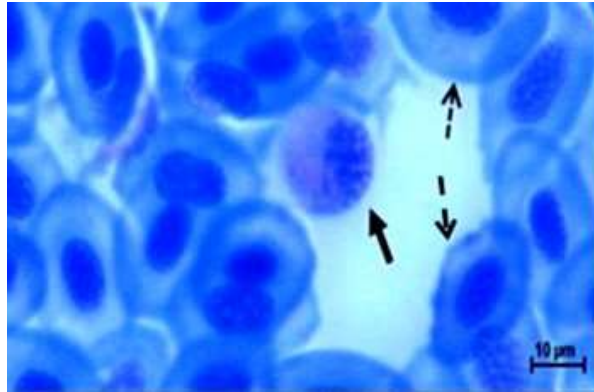


Figura 1. Frotis sanguíneo perteneciente a cachamoto (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) mediante la coloración de Giemsa. La flecha sólida señala un heterófilo del tipo neutrófilo, las flechas punteadas señalan eritrocitos. Aumento 100X.

La cromatina por lo general se observa compacta y a veces se presenta en grumos. Mientras que el citoplasma se advirtió de color rosa pálido, presentando granulaciones finas, algunas de color azul claro. La morfología de este tipo de células es similar a la descrita para *Salminus maxillosus* por Veiga *et al.* (2000), y para la especie parental *C. macropomum* por Romero (2012). Estos resultados, en cuanto a forma y tamaño del núcleo, difieren a los presentados en *Salminus affinis* por Atencio-García *et al.* (2007), en *Porichthys porosissimus* por Galeano *et al.* (2010) y en *Rhamdia quelem* por Gianeselli *et al.* (2005), en dicho trabajo, los autores reportaron núcleos bilobulados, células de tamaños más grandes, y en algunas ocasiones, presencia de vacuolas en el citoplasma, y sin granulaciones con tonos azulados,

Heterófilos del tipo eosinófilos: se observaron cómo células redondas, de entre 5,00 μm -12,00 μm de diámetro. Con núcleo excéntrico, ovalado, en ocasiones redondo, de color azul claro el cual presenta cromatina compacta y en algunas ocasiones laxa. El citoplasma, se observó de color rosa pálido, con dos tipos de granulaciones: unos (los más abundantes) de forma y tamaños variados, refringentes y de color naranja (acidófilos), y otro tipo que se observó en menor cantidad, de formas y tamaños variados, color púrpura intenso (figura 2). Estos resultados se diferencian de los hallados para *C. macropomum* por Salazar-Lugo *et al.* (2012), para *S. cuspicaudus* por Correa-Negrete *et al.* (2009), *S. maxillosus* por Veiga *et al.* (2000) y para *Schroederichthys chilensis* por Valenzuela *et al.* (2003), quienes, reportaron un solo tipo de gránulo.

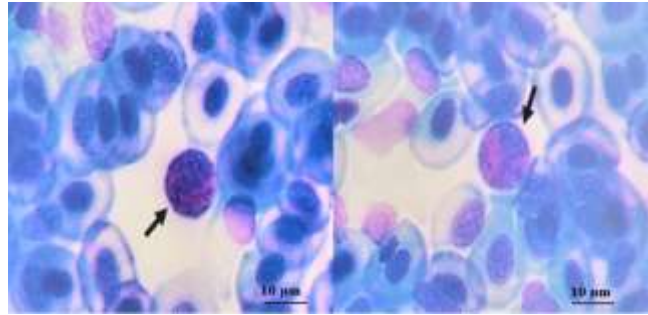


Figura 2. Frotis sanguíneo de cachamote. La flecha señala un ejemplo de heterófilos del tipo eosinófilos. En la imagen se observa los dos tipos de gránulos que se determinaron según las características de coloración. Aumento 100X. Coloración de Giemsa

Heterófilos del tipo basófilos: Se vislumbraron cómo células redondas, de tamaño entre 6,00 µm -8,00 µm de diámetro. El núcleo presenta forma redondeada de color azul intenso. El citoplasma, por su parte se

observó de color azul claro, apenas visible, con abundantes gránulos de color violeta intenso, de tamaño irregular, distribuidos de forma variable, tanto en el citoplasma como en el núcleo (figura 3).

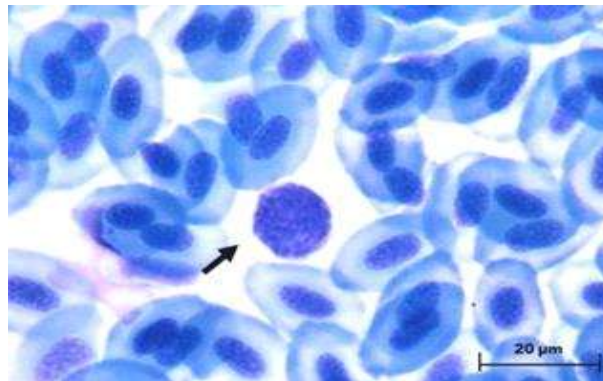


Figura 3. Frotis sanguíneo de cachamote. En la imagen se observa un heterófilo del tipo basófilo con los gránulos característicos de color violeta intenso. Aumento 100X. Coloración de Giemsa.

Resultados similares se encontraron para *Oreochromis niloticus* por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011), *S. cuspidatus*, por Correa-Negrete *et al.* (2009), y *Ginglymostoma cirratum*, por Vergara y Mantilla, (1996); mientras que, por otro lado, otros autores, no reportaron la presencia de células basófilicas, en *Dicentrarchus labrax*

(Esteban *et al.*, 2000) y en *Acipenser sinensis* (Zexia *et al.*, 2006).

Células semejantes a los linfocitos: Se observaron, de acuerdo con su forma, dos subtipos: los pequeños y los grandes (figura 4). Las células semejantes a los linfocitos del subtipo pequeño, tienen un tamaño entre 3,00 µm -5,00 µm de diámetro. El núcleo se

observa grande, con cromatina compacta, de color azul intenso, redondo y de borde irregular, ocupando casi toda la superficie de la célula. Presentan citoplasma escaso, poco visible, de color azul claro, sin ningún tipo de granulaciones (figura 4A).

Células semejantes a los linfocitos del subtipo grande: se observaron de forma redonda, con un tamaño entre $6,00\ \mu\text{m}$ - $8,00\ \mu\text{m}$ de diámetro.

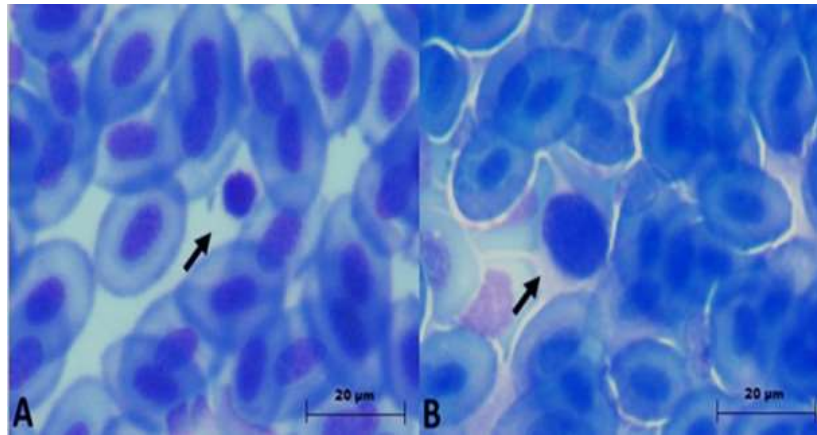


Figura 4. Frotis sanguíneo de cachamato 4A: la flecha señala una célula semejante a los linfocitos del subtipo pequeño. 4B: la flecha señala una célula semejante los linfocitos del subtipo grande. Aumento 100X. Coloración de Giemsa.

El núcleo, de cromatina compacta, abarca casi toda la célula, es generalmente redondo, de color azul, coloreándose más intensamente que el de los linfocitos pequeños. El citoplasma, se presenta escaso, de bordes irregulares, de color azul ligeramente más intenso que el de los linfocitos pequeños, no se observaron granulaciones (figura 4B). Estos resultados concuerdan con los reportados para *Astronotus ocellatus* por Iannacone *et al.* (2006) y para *S. cuspidus* por Correa-Negrete *et al.* (2009).

Células monocíticas

Se observaron como células redondeadas, grandes, de tamaño entre $8-10\ \mu\text{m}$ de diámetro. El núcleo se observó de forma variable, redonda u ovalada, y en algunas ocasiones con ligera forma arriñonada; de color azul claro, con la cromatina dispersa. El citoplasma se observó azul grisáceo, con la presencia de vacuolas en su interior, se observaron granulaciones escasas muy finas (Figura 5). Resultados semejantes a estos fueron reportados en *Danio rerio* (Crowhurst *et al.*, 2002), en *S. chilensis* (Valenzuela *et al.*, 2003), en *P. porosissimus* (Galeano *et al.*,

2010) y en *Hoplosternum littorale* (Tavares-Díaz y Marques, 2005).

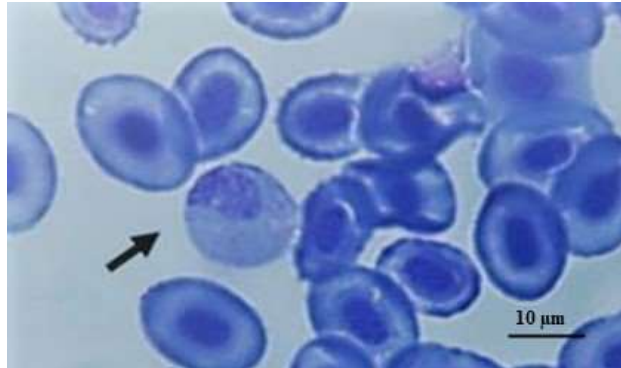


Figura 5. Frotis sanguíneo de cachamote. La flecha señala una célula monocítica. Aumento 100X. Coloración de Giemsa.

Trombocitos

Se observaron de acuerdo con su forma, dos subtipos: los de forma redondeada y los de forma ovalada (figura 6).

Los trombocitos redondos tienen un tamaño que oscila entre 3,00 μm -5,00 μm de diámetro. El núcleo es ligeramente redondo y en algunas ocasiones ovalado, de color azul intenso. Con respecto al citoplasma, este es escaso, de color azul-grisáceo, poco visible con vacuolas escasas y no presenta granulaciones (figura 6A).

Los trombocitos ovalados, presentan un tamaño más grande que los de forma redondeada, con un diámetro que oscila entre 4,00 μm - 6,00 μm . El núcleo de color azul intenso presenta formas variadas, que van desde arriñonado, ovalado sin muesca, ovalado, presentando en su zona media una especie de muesca, lo que lo hace más delgado en esa región. Con respecto al citoplasma, este se presentó escaso, de tonalidad azul grisácea, sin ningún tipo de granulaciones y con vacuolas escasas (figura 6B).

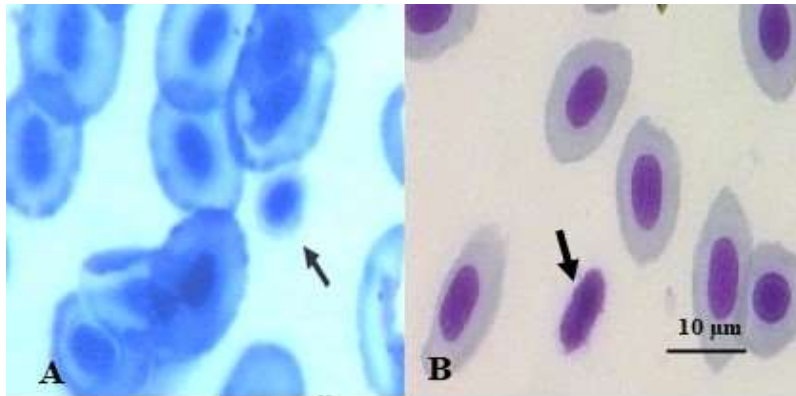


Figura 6. Frotis de cachamuto. 6A: la flecha señala un trombocito redondo. 6B: la flecha señala un trombocito ovalado. Aumento 100X. Coloración de Giemsa.

Los trombocitos, morfológicamente, coinciden con los descritos por Valenzuela *et al.* (2003) para *S. chilensis*, por Salazar-Lugo *et al.* (2012) para *C. macropomum* y por Alaye-Rahy y Morales-Palacios (2013) para *Chirostoma estor*, en contraste estos resultados difieren con los reportados por Iannacone *et al.* (2006) para *A. ocellatus*, quienes no observaron la presencia de trombocitos.

La descripción de la morfología de los leucocitos permitió identificar seis tipos de células, las cuales se clasificaron como células heterófilas: en este grupo se ubicaron los del tipo neutrófilos, del tipo eosinófilos, y del tipo basófilos; adicionalmente, se identificaron células semejantes a los linfocitos, células monocíticas, y trombocitos. Estos seis tipos de células concuerdan con las descritas en otros estudios para peces teleósteos (Shigdar *et al.*, 2009; Siqueira *et al.*, 2009), sin embargo,

presentaron algunas variaciones importantes con respecto a la morfología, como es el caso de los heterófilos del tipo eosinófilos, donde se observaron distintos tipos de gránulos, con formas variables, y distintas coloraciones.

En los heterófilos del tipo eosinófilos, se pudo observar un tipo de gránulo, el cual se coloreo de naranja intenso y otro tipo de gránulo que adquirió coloración purpura intenso. Este hallazgo es significativo ya que en otros estudios de peces teleósteos solo se reportaron granulaciones que también tenían formas variadas, pero que solo se teñían de color naranja intenso (Veiga *et al.*, 2000; Valenzuela *et al.*, 2003; Correa-Negrete *et al.*, 2009; Salazar-Lugo *et al.*, 2012), lo cual hace presumir que, muy posiblemente, estos gránulos sean lisosomas ricos en peroxidasa y otras enzimas hidrolíticas que contribuyen a que la célula cumpla con su función celular (Vergara y Mantilla, 1996). La identificación de estos gránulos de naturaleza básica, en este

tipo de células, permite deducir que los mismos están constituidos por moléculas de naturaleza básica, muy probablemente entre ellas, estén la proteína básica mayor de los eosinófilos (MBP por sus siglas en inglés), la colagenasa y la lisozima, entre otras (Veiga *et al.*, 2000; Kotomi *et al.*, 2001).

En cuanto a los gránulos observados en los heterófilos del tipo neutrófilos y del tipo eosinófilos, ya Anton-Marin *et al.* (2015) en *C. macropomum*, mediante microscopia electrónica, demostró la existencia de gránulos citoplasmáticos con una amplia variedad de formas y tamaños en este mismo tipo de células. La función en peces de los neutrófilos y eosinófilos no está completamente clara, sin embargo, se relacionan con la estimulación antigénica, la

inmunidad contra bacterias e infecciones parasitarias (Valenzuela *et al.*, 2003). Debido a la presencia de este tipo de gránulos contentivos de enzimas y proteínas de diversa naturaleza, pudiera pensarse que estos leucocitos, además de tener las funciones antes señaladas, muy probablemente intervienen de forma activa en el proceso de fagocitosis (Rojas y Arce, 2004).

La tabla 1 muestra el resumen de las características morfológicas, determinadas mediante la coloración de Giemsa, en las células leucocitarias de cachamote.

Características citoquímicas

Ácido peryódico de Schiff (PAS)

Este método resultó positivo para los heterófilos del tipo neutrófilos (figura 7A) y los del tipo eosinófilos (figura 7B).

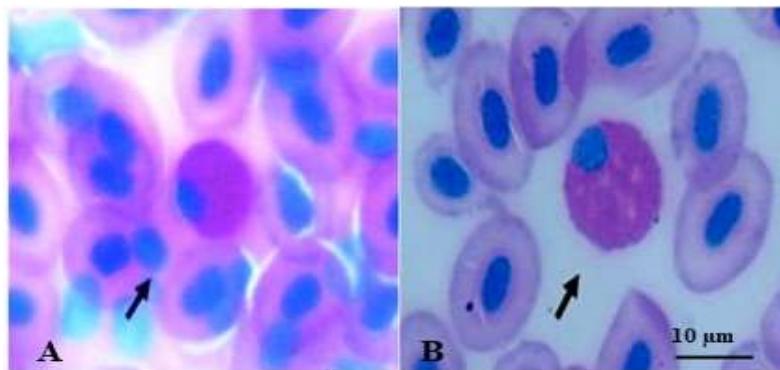


Figura 7. Frotis sanguíneo de cachamote mediante la coloración de Ácido peryódico de Schiff (PAS). 7A: la flecha señala un heterófilo del tipo neutrófilo PAS (+). 7B: la flecha señala un heterófilo del tipo eosinófilo PAS (+). Aumento 100X.

En los mismos, se puede observar en el citoplasma de la célula, la presencia de una

coloración naranja-rojizo intenso, siendo más intensa, en las células del tipo eosinófilos;

mientras que resultó negativa para los heterófilos del tipo basófilos, células semejantes a los linfocitos, células monocíticas (figura 8A) y trombocitos (figura

8B), evidenciándose mediante la observación de una coloración rosa pálido en el citoplasma de las células.

Tabla 1. Resumen de las características morfológicas halladas en las células leucocitarias de cachamote en condiciones de cultivo.

CÉLULA	FORMA	CITOPLASMA	NÚCLEO
Heterófilos del tipo neutrófilos	Redonda	Abundante, rosa pálido, con granulaciones de color azul claro	Redondo, arriñonado, excéntrico, de color azul intenso
Heterófilos del tipo eosinófilos	Redonda	Rosa pálido, con granulaciones acidófilas y basófilas	Ovalado o redondo, excéntrico, de color azul claro
Heterófilos del tipo basófilos	Redonda	Azul claro, con gránulos basófilos que ocupan todo el citoplasma	Redondeado, excéntrico, de color azul claro
Trombocitos	Ovalada Redonda	Escaso, sin granulaciones, de color azul-grisáceo	Redondo u ovalado sin muesca; redondo, ovalado con muesca, de color azul intenso
Células semejantes a los linfocitos	Redondo	Escaso, sin granulaciones, azul claro	Redondo, borde irregular, de color azul intenso
Células monocíticas	Redonda	Azul grisáceo, presencia de vacuolas, con granulaciones escasas y finas	Ovalado o redondo, arriñonado, de color azul claro

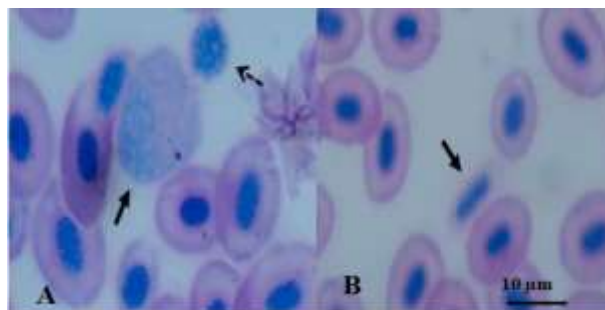


Figura 8. Frotis sanguíneo de cachamote mediante la coloración de ácido peryódico de Schiff (PAS). 8A: la flecha sólida señala una célula monocítica PAS (-), la flecha punteada señala una célula semejante a los linfocitos PAS (-). 8B: la flecha señala un trombocito ovalado PAS (-). Aumento 100X.

Estos resultados concuerdan con los hallados en *C. macropomum* (Romero, 2012), donde se encontró reacción positiva para PAS en los heterófilos del tipo neutrófilos y del tipo eosinófilos, así como para *O. niloticus* (Kotomi *et al.*, 2001) donde solo resultaron positivos los heterófilos del tipo neutrófilos, al igual que en *H. littorale* (Tavares-Días y Marques, 2005); sin embargo, difieren de los resultados obtenidos en *O. aureus* (Silveira-Coffigny *et al.*, 2005) donde resultaron positivas las células monocíticas

La coloración de reacción de Schiff, se utiliza para evidenciar la presencia de glucógeno en los gránulos de las células. El hecho que exista glucógeno en estas células está íntimamente ligado al abastecimiento de energía para la realización de actividades que utilicen energía de rápido acceso, como por ejemplo la fagocitosis (Kotomi *et al.*, 2001). Según la lógica de este razonamiento, este hallazgo implicaría que los heterófilos del tipo neutrófilos y los del tipo eosinófilos son células con una reserva de glucógeno elevada (lo cual se refleja por la intensidad del color

que adquieren), lo que hace suponer que son células que tienen una alta demanda energética, en consecuencia, ambas células muy posiblemente, están implicadas en los procesos de fagocitosis, observaciones que permiten sustentar la afirmación realizada anteriormente con respecto a la función que cumplen los heterófilos del tipo eosinófilos, donde se plantea la posibilidad de que estas células realicen el proceso de fagocitosis de forma activa (Rojas y Arce, 2004; Rubio-Godoy, 2011; Chenjie *et al.*, 2020)

Negro de Sudan B

La positividad de esta reacción se demuestra por la presencia de gránulos de color marrón en el citoplasma. Para esta tinción se observó una reacción positiva en los heterófilos del tipo neutrófilos (figura 9A), del tipo eosinófilos (figura 9B), y del tipo basófilos (figura 10A), y una reacción débil en las células monocíticas (figura 10B), mientras que se consideró una reacción negativa en las células semejantes a los linfocitos (figura 11A) y trombocitos (figura 11B).

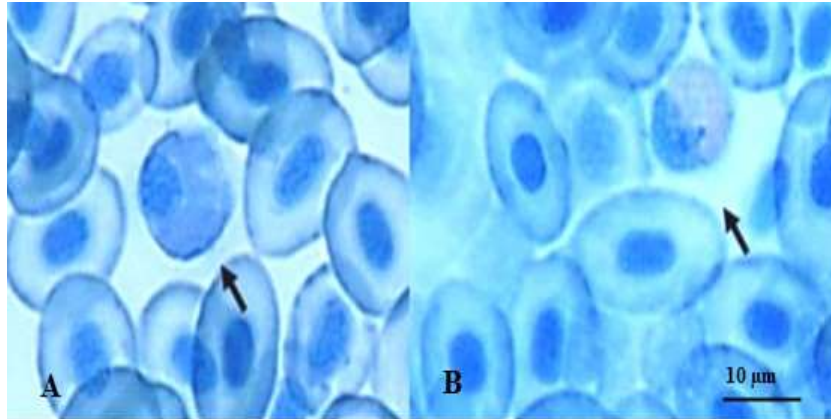


Figura 9. Frotis sanguíneo de cachamato mediante la coloración de Negro de Sudan B. 9A: la flecha señala un heterófilo del tipo neutrófilo Negro de Sudan B (+). 9B: la flecha señala un heterófilo del tipo eosinófilo Negro de Sudan B (+).

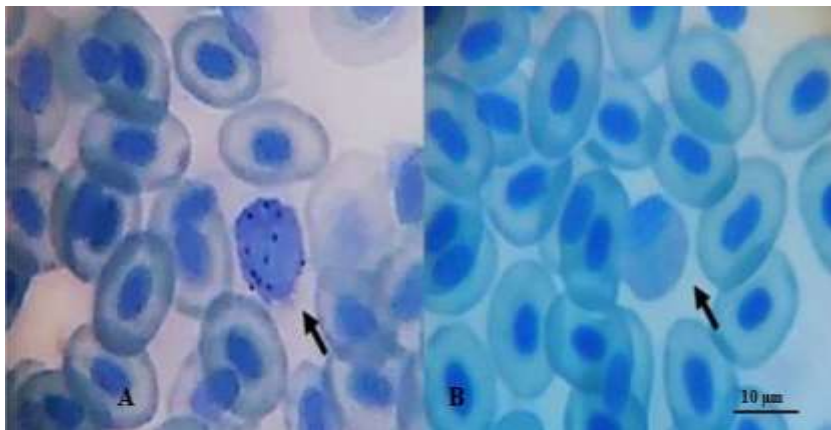


Figura 10. Frotis sanguíneo de cachamato mediante la coloración de Negro Sudan B. 10A: la flecha señala un heterófilo del tipo basófilo Negro de Sudan B (+). En la figura 10B: la flecha señala una célula monocítica Negro de Sudan B (+) reacción débil. Aumento 100X.

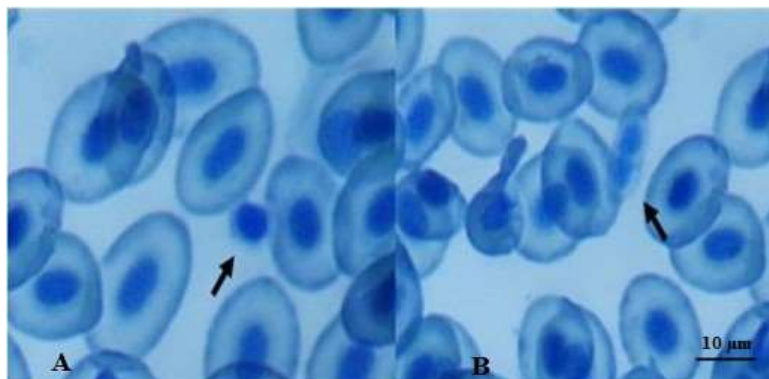


Figura 11. Frotis sanguíneo de cachamato mediante la coloración de Negro de Sudan B. 11A: la flecha señala una célula semejante a los linfocitos Negro de Sudan B (-). 11B: la flecha señala un trombocito alargado Negro de Sudan B (-). Aumento 100X.

Estos resultados coinciden con los obtenidos para *C. macropomum* por Romero (2012), *O. aureus* por Silveira-Coffigny *et al.* (2005), y para *O. niloticus* por Kotomi *et al.* (2001) quienes también reportaron positivos a los heterófilos del tipo neutrófilos, sin embargo, difieren con Silveira-Coffigny *et al.* (2005) y con Romero (2012) con respecto a que ellos no reportaron como positivos a los heterófilos del tipo basófilos.

La coloración de Negro Sudan B se usa para evidenciar la presencia de lípidos en las células, muy posiblemente aquellas que mostraron reacción positiva utilizan reservas de lípidos, grasas neutras y esteroides en periodos de falta de alimento o condiciones ambientales adversas.

Las reservas adecuadas de lípidos son necesarias por los organismos para mediar los efectos del estrés, ya que los lípidos sirven como almacenadores intermediarios de energía durante períodos prolongados de falta de alimentos, probablemente las células que presentaron reacción positiva contengan

mayores reservas de lípidos, quizás debido a, entre otras cosas, a los diferentes constituyentes de los gránulos y de las membranas celulares de estas (Kotomi *et al.*, 2001; Silveira-Coffigny *et al.*, 2005).

Mieloperoxidasa

La presencia de mieloperoxidasa en los gránulos de las células se evidencia por la manifestación de un color azul oscuro en el citoplasma. En esta investigación se observaron resultados positivos para los granulocitos heterófilos del tipo neutrófilos (Figura 12A), y débil para los del tipo eosinófilos (Figura 12B), mientras que la reacción fue negativa para los trombocitos (Figura 13), las células semejantes a los linfocitos y las células monocíticas, con respecto a las células del tipo basófilos, no se pudo afirmar si son negativas o positivas ya que no lograron ser observadas con esta coloración.

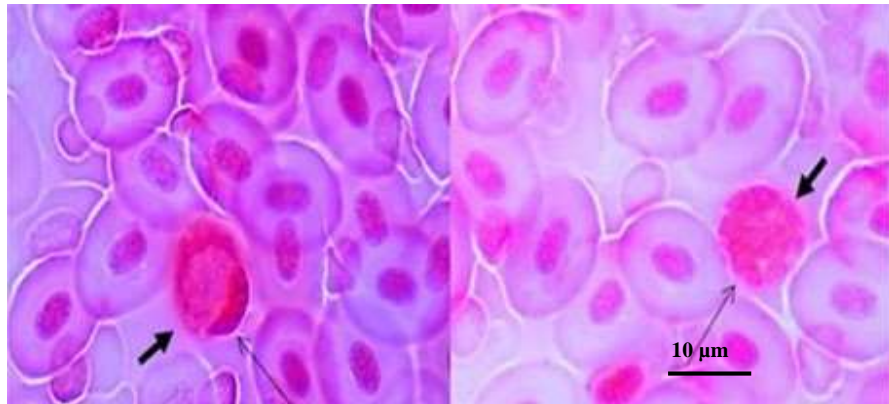


Figura 12. Frotis sanguíneo de cachamoto mediante la coloración de mieloperoxidasa. 12A: la flecha delgada señala un heterófilo del tipo neutrófilo mieloperoxidasa (+), la flecha gruesa señala los gránulos peroxidasa (+). 12B: la flecha delgada señala un heterófilo del tipo eosinófilo mieloperoxidasa (+) reacción débil, la flecha sólida señala los gránulos peroxidasa (+). Aumento 100X.

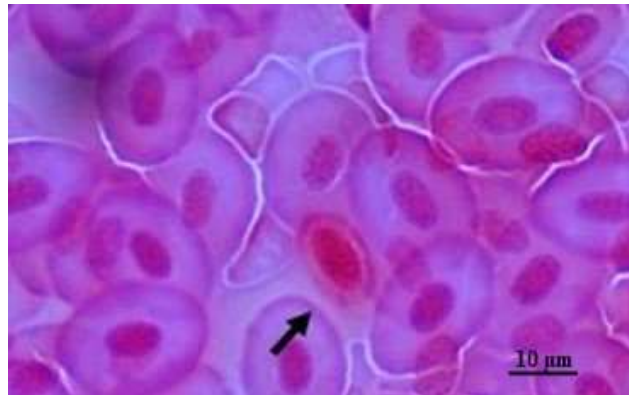


Figura 13. Frotis sanguíneo de cachamoto mediante la coloración de mieloperoxidasa. La flecha señala un trombocito alargado mieloperoxidasa (-). Aumento 100X.

Estos resultados son semejantes a los reportados en *O. niloticus* (Kotomi *et al.*, 2001), y para *C. macropomum* (Salazar-Lugo *et al.*, 2012), en cuanto a que reportaron positivos los heterófilos del tipo neutrófilos; sin embargo, no concuerdan con respecto a la positividad de los del tipo eosinófilos, ya que, para ellos, esta coloración resultó negativa. Los resultados obtenidos indican que estas células tienen funciones bactericidas, y esto

se explica por el hecho de que la enzima peroxidasa es producida en aquellas células que muestren función fagocítica (Kotomi *et al.*, 2001). El de que ambas células presenten reacción positiva a la mieloperoxidasa, indica, indudablemente, que participan en el proceso de fagocitosis (Veiga *et al.*, 2000).

Negro Amido

La reacción positiva para esta coloración viene dada por la presencia de un color azul oscuro intenso en el interior de la célula. Se observó positividad para los seis (6) tipos de células reportados en este trabajo (figuras 14 y 15).

Los resultados obtenidos concuerdan con Veiga *et al.* (2000) en *S. maxillosus* quienes reportaron positividad para los heterófilos del tipo neutrófilos y del tipo eosinófilos, mientras que Romero (2012) en *C. macropomum* solo reportó positividad para los heterófilos del tipo neutrófilos.

Estos resultados vienen a demostrar la naturaleza química de este tipo de células, ya que la presencia de proteínas de naturaleza básica en las mismas es un indicativo indirecto de su carácter citotóxico y, por consiguiente, su posible papel como participantes en la resistencia contra la invasión hacia microorganismos (Salazar-Lugo *et al.*, 2012). La citotoxicidad celular, a su vez, mediada por las proteínas catiónicas las cuales están incluidas en los gránulos citoplasmáticos, ejemplo de esto lo constituyen, muy probablemente, los heterófilos del tipo eosinófilos. En mamíferos, cuando estas células son reclutadas hacia los sitios donde ocurren procesos inflamatorios, con frecuencia,

sufren desgranulación, liberando una gama de moléculas citotóxicas catiónicas, que incluyen a la proteína básica principal (MBP) y la peroxidasa de eosinófilos (EPX, por sus siglas en inglés), así mismo existe producción de numerosas citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Davoine y Lacy, 2014). Los eosinófilos contienen gránulos secretores únicos, conocidos como gránulos cristaloides. Estos son llamados así, debido a que están conformados por núcleos cristalinos (los cuales son característicos de este tipo de células); que son electrón denso cuando son observados en imágenes tomadas mediante microscopía electrónica de transmisión. El núcleo cristalino consiste en MBP altamente concentrada y cristalizada, una proteína catiónica que tiene efectos citotóxicos en los tejidos cuando se libera. Además del núcleo cristalino rico en MBP, los gránulos cristaloides contienen una matriz que está enriquecida, con al menos otras tres proteínas catiónicas que son EPX, proteína catiónica de eosinófilos (ECP, por sus siglas en inglés) y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN). La fase líquida de la matriz también contiene muchas otras enzimas y proteínas, incluidas citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Saffari *et al.*, 2014).

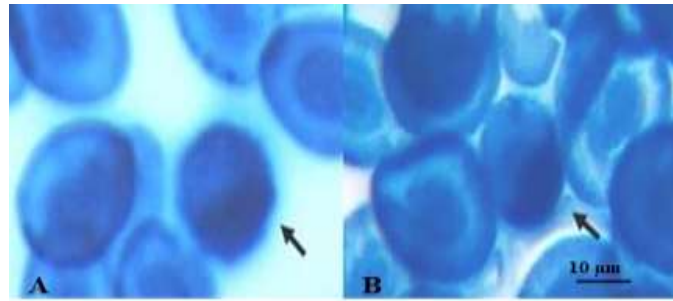


Figura 14. Frotis sanguíneo de cachamotom mediante la coloración de negro amido. 14A: la flecha señala una heterófilo del tipo neutrófilo negro amido (+). 14B: la flecha señala una heterófilo del tipo eosinófilo negro amido (+). Aumento 100X.

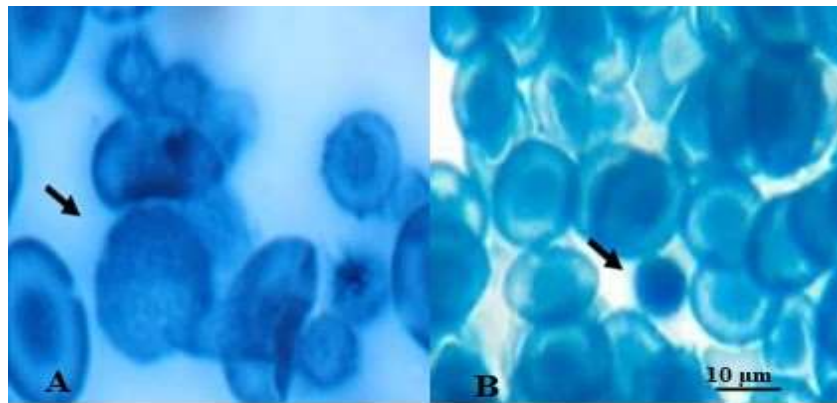


Figura 15. Frotis sanguíneo de cachamotom mediante la coloración de negro amido. 15A: la flecha señala una célula monocítica negro amido (+) En la figura 15B: la flecha señala una célula semejante a los linfocitos del subtipo pequeño negro amido (+). Aumento 100X.

Citoquímicamente, en las células blancas del híbrido *C. macropomum* x *P. brachypomus* se demostró la presencia de glucógeno en los heterófilos del tipo neutrófilos, y en los del tipo eosinófilos; mientras que se determinó la presencia de mieloperoxidasa en heterófilos del tipo neutrófilos y en los del tipo eosinófilos se observó una reacción débil; con respecto a los lípidos, resultaron positivos los heterófilos del tipo neutrófilos, los del tipo eosinófilos, los del tipo basófilos, y una reacción débil en las células monocíticas;

finalmente para la coloración de negro amido resultaron positivas todas las células, hallándose, positividad para todas las células con respecto a la presencia de proteínas básicas.

Las características morfológicas y citoquímicas observadas en esta investigación resultaron similares en algunos aspectos, a las encontradas en otros estudios sobre peces óseos, sin embargo, existen diferencias con respecto a los hallazgos encontrados en este estudio sobre las células

blancas; por ejemplo, las determinadas para los heterófilos del tipo eosinófilos, en el cual se pudo determinar la presencia de gránulos que se tiñen de dos colores diferentes, lo cual marca una distinción con respecto a los reportados en otros peces teleósteos, donde solo se han descrito gránulos del tipo acidófilos.

La Tabla 2 muestra el resumen de las características citoquímicas realizadas a las células leucocitarias del pez híbrido *C. macropomum* x *P. brachypomus*.

Tabla 2. Resumen de las características citoquímicas de las células leucocitarias de *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*

Célula/Tinción	PAS	Negro de Sudan B	Mieloperoxidasa	Negro amido
Heterófilos del tipo neutrófilos	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Heterófilos del tipo eosinófilos	Positivo	Positivo	Reacción Débil	Positivo
Heterófilos del tipo basófilos	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Trombocitos	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Células semejantes a los linfocitos	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Células monocíticas	Negativo	Reacción débil	Negativo	Positivo

PAS: Ácido peryódico de Schiff

Las características morfológicas de las células blancas presentes en la sangre del híbrido *C. macropomum* x *P. brachypomus*, concuerdan, en algunos aspectos, con las características celulares descritas para otros peces teleósteos, sin embargo, se hallaron diferencias determinantes en los heterófilos del tipo eosinófilo con respecto a sus granulaciones. Por otra parte, la capacidad de estudiar estas células proporciona nuevos conocimientos, los cuales son importantes para monitoreos de tipo ambiental en este tipo de organismos, lo cual ayudaría a establecer

un control sanitario para asegurar la salud de estos peces en los cultivos, así mismo los hallazgos obtenidos permiten deducir, de forma indirecta, cuales son los constituyentes celulares del sistema inmune innato, sirviendo como un importante estudio base para futuras investigaciones.

CONCLUSIONES

En la especie híbrida estudiada se describen seis (6) tipos celulares, las cuales, con coloración de Giemsa, muestran algunas semejanzas tintoriales a las halladas en otros

peces, aunque con ciertas particularidades con relación a la forma, tamaño y tipos de gránulos, así como en la forma del núcleo.

Los heterófilos del tipo eosinófilos presentaron particularidades tintoriales diferentes a las reportadas en una de las especies parentales (*C. macropomum*), lo que permite su fácil diferenciación morfológica.

Los heterófilos del tipo neutrófilos y los del tipo eosinófilos contienen glucógeno, lo cual refleja que tienen una alta demanda energética por lo que muy probablemente participen en procesos tales como el de fagocitosis.

El hecho que las células heterófilas del tipo neutrófilos, los del tipo eosinófilos y los del tipo basófilos tengan una reacción Negro Sudan B positiva es indicativo que contienen una cantidad de lípidos apreciables, los cuales son posiblemente utilizados como reserva energética para enfrentar situaciones o periodos ambientales adversos.

La reacción positiva de los heterófilos del tipo neutrófilos y los del tipo eosinófilos a la coloración de la mieloperoxidasa, prueba que estas células contienen peroxidadas, lo cual a su vez implica la factibilidad que intervengan en procesos de defensa de la inmunidad innata.

La heterogenicidad de las células blancas del pez híbrido estudiado, sugiere la necesidad de

profundizar en estudios histoquímicos más específicos para poder identificar con más precisión la función de cada leucocito.

BIBLIOGRAFÍA

ALAYE-RAHY, N. y Morales-Palacios, J. 2013. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 23(3):340-347.

ANTÓN-MARÍN, Y. 2014. El sistema inmune innato del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) como modelo para estudios de inmunotoxicidad. Tesis de doctorado. Universidad de Oriente. Cumaná.

ANTÓN-MARÍN, Y., Rojas, L. y Salazar-Lugo, R. 2015. Ultrastructural changes induced by cadmium in pronephros of *Colossoma macropomum*. *Revista Científica, FCV-LUZ*, (25)4:338-345

ATENCIO-GARCIA, V., Genes, F., Madariaga, D. and Pardo, S. 2007. Hematology and blood chemistry of juveniles rubio (*Salminus affinis* Pisces: Characidae) captured in the River Sinú. *Acta Biol. Colomb.*, 12:27-40.

BEELLEN, R., Boyd, B., Garavello, J., Pavanelli, G. and Ainsworth, A. 2003. A citomethical, light and electron microscopic study of the peripheral blood leucocytes of hibrid surubim catfish (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*). *Comp. Clin. Panth.*, 12:61-68.

BLANCO, J. 2004. Parámetros hematológicos e inmunológicos de la

cachama *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) expuesto a cloruro de cadmio. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente. Cumaná.

CHENJIE, F., Zwozdesky, M. and Stafford, J. 2020. A fish leukocyte immune-type receptor uses a novel intracytoplasmic tail networking mechanism to cross-inhibit the phagocytic response. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(14):5146

CONROY, D. 1988. Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria. Maracay (Venezuela). *Pharma. Fish.*, pp. 25.

CORREA-NEGRETE, J., Garrido, A., Prieto, M., Atencio, V. y Pardo, S. 2009. Caracterización de células sanguíneas y parámetros hematológicos en blanquillo *Sorubim cuspicaudus*. *Zootecnia Trop.*, 27(4):393-405.

CROWHURST, M., Layton, J. and Lieschke, G. 2002. Developmental biology of zebrafish myeloid cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 46:483-492.

CUESTA, A., Esteban, M. and Meseguer, J. 2006. Cloning, distribution and up-regulation of the teleost fish MHC class II alpha suggests a role for granulocytes as antigen-presenting cells. *Mol. Immunol.*, 43:1275-1285.

DAVIS, A., Maney, D. and Maerz, J. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecol.*, 22:760-772.

DAVOINE, F. and Lacy, P. 2014. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Front. Immunol.* 10:389-570.

ELLIS, A. 1977. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish. Biol.* 11:435-491.

ESTEBAN, M., Muñoz, J. y Meseguer, J. 2000. Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Flow cytometric and microscopic studies. *Anat. Record.* 258:80-89.

GALEANO, N., Prat, M., Guagliardo, S., Schwerdt, C. y Tanzola, R. 2010. Características hematológicas de *Porichthys porosissimus* (pisces: batrachoidiformes) en el estuario de bahía blanca, argentina. *Analecta Vet.* 30(1):5-11.

GARRIDO, G., Correjo, M. y Salinas, E. 2003. Manual de colorantes para laboratorios de ciencias biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México.

GIANESELLI, M., Vanotti, M., Hernández, D. y Domitrovic, H. 2005. Caracterización morfológica de leucocitos de *Rhamdia quelen*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Argentina.

HAHN-VON-HESSBERG, C., Grajales-Quintero, A. y Gutiérrez-Jaramillo, A. 2011. Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Vet. Zootec.* 5(1):47-61.

HANINGTON, P., Hitchen, S., Beamish, L. and Belosevic, M. 2009. Macrophage colony stimulating factor (CSF-1) is a central growth factor of goldfish macrophages. *Fish. Shellfish. Immunol.* 26:1-9.

HAUGLAND, G., Jordal, A. and Wergeland, H. 2012. Characterization of small, mononuclear blood cells from salmon having high phagocytic capacity and ability to differentiate into dendritic like cells. *PLOS ONE* 7(11):e49260.

HINE, P. 1992. The granulocytes of fish. *Fish. Shellfish. Immunol.* 2:79-88.

- IANNACONE, J., Falcon, W. y Vargas, R. 2006. Parámetros hematológicos del *Acauraguazú astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) (cichilidae: perciformes). Laboratorio de Ecofisiología Animal. Universidad Nacional Federico Villareal. Lima.
- KANU, K., Okoboshi, A. and Otitolaju, A. 2023. Haematological and biochemical toxicity in freshwater fish *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* following pulse exposure to atrazine, mancozeb, chlorpyrifos, lambda-cyhalothrin, and their combination. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C: Toxicol. Pharmacol.* 270:109643
- KAPLOW, L. 1965. Simplified myeloperoxidase stain using benzidine dihydrochloride. *Blood.* 25:215-219.
- KATZENBACK, B. and Belosevic. M. 2009. Isolation and functional characterization of neutrophil-like cells, from goldfish (*Carassius auratus l*) kidney. *Dev. Comp. Immunol.* 33(4):601-11.
- KOTOMI, I.; Imoto, M.; Da Silva, W. y Reiko, E. 2001. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis (tilapia) niloticus*. (Linnaeus, 1758) (cichlidae, Teleostei) - Parte II. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38(6):273-277.
- LEKNES, I. 2007. Eosinophilic granule cells and endocytic cells in intestinal wall of pearl gouramy (*Anabantidae: Teleostei*). *Fish. Shellfish. Immunol.* 23(4):897-900.
- LITMAN, G. and Cannon, J. 2009. Immunology: Immunity's ancient arms. *Nature.* 459:784-786.
- LÓPEZ, P. y Anzoátegui, D. 2013. Engorde de la cachama (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816) cultivada en un sistema de recirculación de agua. *Zootecnia Trop.* 31(4):271-277.
- LYNCH, M., Rápale, S., Mellor, L. y Spare, P. 1977. *Análisis clínicos*. Segunda edición. Nueva editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F.
- MARTINS, M., Tavares-Días, R., Fujimoto, E., Onaka, E. y Nomura, D. 2004. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fishpond. *Rev. SciELO Br.* 56(5):640-646.
- OLABUENAGA, S. 2000. Fish immune system. *Gayana Concepción.* 64(2):205-215.
- OVERLAND, H., Pettersen, E., Ronneseth, A. and Wergeland, H. 2010. Phagocytosis by B-cells and neutrophils in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and Atlantic cod (*Gadus morhua L.*). *Fish. Shellfish. Immunol.* 28:193-204.
- PETRIE-HANSON, L. y Ainsworth, A. 1999. Differential cytochemical staining characteristics of channel catfish leukocytes identify cell populations in lymphoid organs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 73:129-144.
- POLEO, G., Aranbarrio, J., Mendoza, L. y Romero, O. 2011. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pescq. Agropec. Bras.* 46:429-437.
- PROPHET, E., Millis, J., Arrington, L. y Sobón, M. 1995. *Métodos Histotecnológicos*. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP).
- RANZANI-PAIVA, M., Salles, F., Eiras, J., Eiras, A., Ishikawa, C. y Alexandrino, A. 1999. Análisis hematológico de curimbatá (*Prochilodus scrofa*), pacú (*Piaractus mesopotamicus*) y tambaqui (*Colossoma*

macropomum) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, estado de São Paulo. *Bol. Inst. Pesca*. 25:77-83.

ROJAS, O. y Arce, P. 2004. Fagocitosis: mecanismo y consecuencias segunda parte. Departamento de Inmunología. Instituto Politécnico Nacional. México.

RUBIO-GODOY, M. 2010. Inmunología de los peces óseos. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1(1):47-57.

ROMERO, Z. 2012. Caracterización morfológica y citoquímica de las células inmunocompetentes de hígado, riñón y sangre del pez *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Tesis de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente. Cumaná.

SAFFARI, H., Hoffman, L., Peterson, K., Fang, J., Leiferman, K. and Pease, L. 2014. Electron microscopy elucidates eosinophil degranulation patterns in patients with eosinophilic esophagitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 133(6):1728-1734.

SALAZAR-LUGO, R., Romero, R. y Centeno, L. 2012. Caracterización morfológica y citoquímica de leucocitos del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum* (Characiformes: Characidae). *Saber*. 24(1):49-55.

SALAZAR-LUGO, R., Centeno, L. y Antón-Marín, Y. 2020. *Evaluación del estado de salud de peces en cultivo. I. Técnicas hematológicas*. Publicación técnica. Editorial Publicaciones No Periódicas. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Caracas, Venezuela

SARDAR, M., Khan, M., Alam, M. and Rashid, M. 2000. Cell types in the peripheral blood of waking catfish *Clarias batrachus* (Lin.). *Bangladesh. Fish. Res.* 4(2):157-164.

SHIGDAR, S., Harford, A. and Ward, A. 2009. Cytochemical characterisation of the leucocytes and thrombocytes from Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*, Mitchell). *Fish Shellfish Immunol.*, 26(5): 731–736.

SIQUEIRA, M., Taynara. R., Leão, R., Robson, A., Rodrigues, K., Farias, N., Silva, A., Marcondes, S., Veiga, M., Franco-Belussi, L. and Fernandes, C. 2009. Age-associated hemogram and ultrastructural leukocyte morphology in *Pygocentrus nattereri* (Characiformes: Serrasalminidae) from the Brazilian Pantanal. *Neotrop. Ichthyol.* 9(1):1-15

SILVEIRA-COFFIGNY, R., Cruz, Y., Martínez, M. y Ascencio, F. 2005. Características morfológicas y citoquímicas de las células de la sangre periférica de *Oreochromis aureus* S. *cichlidae*. *REDVET*. 6(10):1 – 8

TAVARES-DIAZ, M y Marques, J. 2005. Peripheral blood cells of the armored catfish *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828: a morphological and cytochemical study. *Braz. J. Morphol. Sci.* 22(4):215-220.

TÚNEZ-FIÑANA, I. 2014. Electroforesis en papel de proteínas séricas. Departamento de Bioquímica y Biología molecular. Universidad de Córdoba. Colombia.

URIBE, M., Pérez, R., Estrada, E., Romero, V. y Torres, M. 2002. Atlas de histología de vertebrados. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

VALENZUELA, A.; Oyarsun, C. y Silva, V. 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot, 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae) la serie blanca. *Gayana Concepción*. 67(1):130-136.

VEIGA, M., Egami, M., Ranzani-Paiva, M. y Rodrigues, E. 2000. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* (Valenciennes, 1840) (Characiformes, Characidae). *Rev. Chil. Anat.* 18(2):245-250.

VERGARA, E. y Mantilla, A. 1996. Morfología comparativa de las células sanguíneas del tiburón nodriza

Gynglimostoma cirratum (Bonnatere, 1788) con diversos peces. Biología marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Colombia.

ZEXIA, G., Weimin, W., Yi, Y., Abas, K., Dapeng, L., Guiwei, Z. and Diana, J. 2007. Morphological studies of peripheral blood cells of the chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish. Physiol. Biochem.* 33:213-222.

VARIACIONES IÓNICAS, EN RELACIÓN AL TIPO DE CRISTAL, EN CÁLCULOS URINARIOS DE PACIENTES UROLITIÁSICOS DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE

Ionic variations, in relation to the type of crystal, in urinary stones of urolithiatic patients from the city of Cumaná, Sucre state

William José Velásquez Sanzonetti¹, José Manuel Rodríguez Dicurú¹, Alexis Cova¹, América Belén Vargas Milano², Leonela de los Ángeles Gutiérrez Milano¹, Vanessa Virginia Velásquez Figueroa¹, Dixson José Velásquez Sanzonetti³, Solanmy María Patiño Velásquez¹

¹Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de ciencias, Departamento de Bioanálisis, Laboratorio de Fisiología Humana, Cumaná, Venezuela. ²Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de ciencias, Departamento de Enfermería, Laboratorio de Fisiología Humana, Cumaná, Venezuela. ³Hospital militar Carlos Arvelo
wjvelasquezs@gmail.com

RESUMEN

Se evaluaron las diferencias en las concentraciones iónicas en concreciones urinarias provenientes de pacientes, masculinos y femeninos, de la consulta de Urología del hospital universitario "Antonio Patricio de Alcalá" de la ciudad de Cumaná, para ello se analizaron 53 cálculos urinarios expulsados espontáneamente o extraídos quirúrgicamente. A cada una de las concreciones urinarias, se le realizó un proceso de digestión con ácidos nítrico y perclórico en una relación 5:1 a una temperatura de 150,00°C. Luego, se midieron las concentraciones de los iones magnesio, calcio, zinc, manganeso y cobre (por absorción atómica), sodio y potasio (por fotometría de llama) y fósforo (por el método de Murphy y Riley). La identificación de los cristales presentes en los cálculos urinarios se realizó por la técnica de difracción de rayos X, y de acuerdo a su composición se clasificaron como cálculos de ácido úrico, oxalato de calcio, fosfato y mixtos (oxalato más fosfato y oxalato más ácido úrico). Se aplicó la prueba estadística Kruskal-Wallis con el propósito de establecer las diferencias significativas en las concentraciones iónicas de los diferentes tipos de cálculos urinarios, y se obtuvieron diferencias altamente significativas en las concentraciones de los iones calcio, magnesio, sodio, fósforo y zinc, mientras que la concentración del ion potasio arrojó diferencias significativas. Los iones cobre y manganeso no mostraron diferencias significativas. Estos resultados permiten señalar que los iones calcio, magnesio, sodio, fósforo, zinc y potasio participan significativamente en los procesos de sobresaturación, precipitación, agregación y formación de los cálculos en el tracto urinario.

Palabras clave: Concreciones renales, compuestos litogénicos, difracción de rayos X

ABSTRACT

Differences in ionic concentrations in urinary concretions from patients, male and female, from the Urology clinic of the "Antonio Patricio de Alcalá" university hospital in the city of Cumaná were evaluated. For this purpose, 53 urinary stones expelled spontaneously or extracted were analyzed surgically. Each of the urinary concretions underwent a digestion process with nitric and perchloric

acids in a 5:1 ratio at a temperature of 150.00°C. Then, the concentrations of magnesium, calcium, zinc, manganese and copper ions (by atomic absorption), sodium and potassium (by flame photometry) and phosphorus (by the Murphy and Riley method) were measured. The identification of the crystals present in the urinary stones was carried out by the X-ray diffraction technique, and according to their composition they were classified as uric acid, calcium oxalate, phosphate and mixed stones (oxalate plus phosphate and oxalate plus acid). uric). The Kruskal-Wallis statistical test was applied with the purpose of establishing the significant differences in the ionic concentrations of the different types of urinary calculi, and highly significant differences were obtained in the concentrations of calcium, magnesium, sodium, phosphorus and zinc ions, while the potassium ion concentration showed significant differences. Copper and manganese ions did not show significant differences. These results show that calcium, magnesium, sodium, phosphorus, zinc and potassium ions participate significantly in the processes of supersaturation, precipitation, aggregation and formation of stones in the urinary tract.

Keywords: Renal concretions, lithogenic compounds, X-ray diffraction

INTRODUCCIÓN

Los cálculos urinarios son estructuras sólidas que se originan como consecuencia de alteraciones en el balance físico-químico y/o dinámico del aparato urinario, desde los túbulos colectores hasta la uretra; tienen el tamaño mínimo de 10000,00 micras y están formados básicamente por elementos cristalinos (sales urinarias), y en menor medida, por elementos amorfos orgánicos y/o inorgánicos (Khan *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2021).

Los cálculos urinarios están conformados principalmente por los compuestos ácido úrico y oxalato de calcio, los cuales precipitan en el tracto urinario donde las orinas poseen un pH ácido. Por esta razón, se hace necesario conocer ciertos aspectos y propiedades de estos compuestos y su relación con el proceso

urolítico. En tal sentido, se debe señalar que el ácido úrico cristaliza en disoluciones acuosas, como ácido úrico anhidro (AUA), o ácido úrico dihidrato (AUD) o una mezcla de ambas fases, de manera que el AUD se transforma rápidamente en AUA (Hesse *et al.*, 1979; Velásquez *et al.*, 2022).

El oxalato de calcio constituye el componente mayoritario en aproximadamente 70,00% de los cálculos urinarios generados en pacientes procedente de los países industrializados, presentándose en dos formas hidratadas diferentes: el oxalato de calcio monohidratado (COM) y el oxalato de calcio dihidrato (COD). Es importante considerar que, la forma dihidratada del oxalato de calcio es la fase termodinámicamente inestable del oxalato de calcio, y que en contacto con la fase líquida se transforma gradualmente en la forma monohidratada que es la estable. De

hecho, la formación de cristales de COD sólo se puede explicar considerando factores cinéticos. De esta forma, se ha demostrado que para los valores elevados de la relación calcio/oxalato, fuerza iónica elevada, presencia de citrato en cantidades importantes y presencia de fosfato de calcio coloidal ($\text{pH} \geq 6,00$), la producción de cálculos de la forma dihidratada es cinéticamente más favorable que la producción de cálculos de la forma monohidratada (Coe *et al.*, 2016; Kustov *et al.*, 2017; Lotan *et al.*, 2023).

El ácido oxálico es un producto final del metabolismo sin utilidad biológica conocida; se trata de un ácido dicarboxílico fuerte, con gran afinidad por los cationes divalentes como el calcio y el magnesio, muy soluble en agua, y que cristaliza en forma deshidratada. El ácido oxálico también puede unirse al sodio y al potasio y formar sales solubles con ellos (Schmiedl *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2023).

Existen dos tipos principales de cálculos que contienen fosfato. Los cálculos de fosfato de calcio formados básicamente de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) o brushita (BRU) ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y los cálculos infecciosos de estruvita $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. También se han encontrado otros fosfatos diferentes, como carbonato de apatita ($\text{Ca}_{10}(\text{OHCO}_3\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) o whitlockita

($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), como componentes mayoritarios o minoritarios de cálculos renales (Daudon *et al.*, 1993; Das *et al.*, 2017; Hoffman *et al.*, 2021).

Los cálculos infecciosos están formados por estruvita (20,00%-60,00%), hidroxiapatita y materia orgánica. Estos cálculos no presentan forma regular, de manera que los cristales de estruvita están diseminados en el interior del cálculo, donde también aparecen esferas individuales de hidroxiapatita y en cantidad considerable de materia orgánica amorfa distribuida por todo el cálculo (Mohamed y Arunai, 2008; Wallace *et al.*, 2023).

Lo anteriormente expuesto señala la importancia del estudio de los iones en los cálculos urinarios, debido a que todas las sales que componen a estas concreciones tienen en su estructura química electrolitos. Además, a través del estudio de la composición iónica del cálculo es posible identificar, en parte, los responsables dietéticos y los mecanismos homeostáticos causantes del proceso urolítico en los individuos con calculosis urinaria. Por estos motivos, se realizó el presente estudio para evaluar las variaciones iónicas en cálculos urinarios de diferentes composiciones, en pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra poblacional

La muestra de la presente investigación estuvo conformada por 53 cálculos urinarios, expulsados espontáneamente o extraídos quirúrgicamente, de pacientes urolitiásicos de la consulta de Urología del hospital universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Procesamiento de las muestras

Los cálculos urinarios obtenidos, fueron lavados con agua destilada y se colocaron dentro de un desecador por 24 horas, seguidamente se pesaron y trituraron en un mortero. Posteriormente, se colocaron en viales etiquetándolos con el nombre, edad y número correspondientes al paciente.

La identificación de los cristales presentes en los cálculos urinarios se realizó por la técnica de difracción de rayos X. Para ello, se utilizaron las muestras trituradas y fueron analizadas en un difractómetro de rayos X, marca Siemens, modelo D5000, el cual usa un tubo de rayos X de cobre y filtro de níquel, con un voltaje de 40,00kV y 20,00mV de intensidad de corriente en el generador de rayos X, y mediante la comparación con patrones internos de la base de datos del computador se identificaron los compuestos cristalinos (Jenkins y Snyder, 1996).

Para la determinación de los iones sodio,

potasio, magnesio, calcio, fósforo, zinc, manganeso y cobre, se trataron las muestras con soluciones ácidas para disolver la materia inorgánica. Se colocaron 25,00 mg de muestra en un vaso de precipitado y se les agregó 1,00 mL de una solución de ácido nítrico: ácido perclórico en una proporción 5:1 y se colocaron a digerir a 150,00°C, luego se le añadió una gota de ácido clorhídrico. Posteriormente, se colocaron en matraces de 25,00 mL, se le añadió 1,00 mL de cloruro de lantano al 0,10%, se enrasaron con agua destilada y se colocaron en envases de plásticos estériles (Garrat, 1960).

Las concentraciones de los iones magnesio, calcio, fósforo, zinc, manganeso y cobre, en los cálculos urinarios, fueron determinados por la técnica de espectrometría de absorción atómica usando un espectrómetro, marca Perkin Elmer, modelo 3100 (Chapman y Pratt, 1961).

Se prepararon patrones primarios expresados en partes por millón (ppm) con el propósito de calibrar el equipo de espectrometría de absorción atómica. Las concentraciones se reflejan en la Tabla 1.

Los iones sodio y potasio fueron medidos en un espectrofotómetro de emisión atómica marca Corning, modelo 410 digital.

Se prepararon patrones que sirvieron para calibrar el equipo empleado y medir las

distintas concentraciones (ppm) de los iones. También se prepararon patrones primarios mostrados en partes por millón (ppm) con el

fin de calibrar el equipo de espectrometría de emisión atómica. Las concentraciones se reflejan en la

Tabla 1. Concentraciones de los diferentes patrones para la calibración del equipo de absorción atómica empleado para la obtención de las concentraciones de las muestras analizadas.

Elemento	Concentración (ppm)			
	Patrón 1	Patrón 2	Patrón 3	Patrón 4
Cobre	1,00	2,00	4,00	5,00
Calcio	1,00	2,00	4,00	5,00
Zinc	0,10	0,25	0,50	1,00
Magnesio	0,10	0,15	0,30	0,50
Manganeso	1,00	1,25	2,00	2,50

ppm= partes por millón

Tabla 2. Concentraciones de los diferentes patrones para la calibración del espectrofotómetro de emisión atómica para la obtención de las concentraciones de las muestras analizadas.

Elemento	Concentraciones (ppm)			
	Patrón 1	Patrón 2	Patrón 3	Patrón 4
Sodio	0,00	1,00	4,00	6,00
Potasio	0,00	1,00	4,00	6,00

ppm= partes por millón

Los iones fosfato fueron determinados mediante el método colorimétrico de Murphy y Riley (Jackson, 1964) en un espectronic 20, para tal fin se prepararon patrones de fósforo, expresados con las siguientes concentraciones (ppm), 0,00; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60 y 1,00. Se colocaron alícuotas de 1,00 mL de las muestras conjuntamente con 4,00 mL del reactivo de Murphy y Riley con ácido ascórbico en matraces de 25,00 mL y se completaron con agua destilada hasta la línea de enrase. Se esperaron 5 minutos y se leyeron las absorbancias a una longitud de

onda de 840 nm.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron analizados por la prueba estadística *Kruskal-Wallis* con el propósito de establecer las diferencias significativas en las concentraciones iónicas de los diferentes tipos de cálculos urinarios. La toma de decisiones se realizó a un nivel de confiabilidad del 95% (DMS) (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla3 muestra el resumen estadístico de

la prueba *Kruskal-Wallis* aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito calcio cuantificado en las muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. La prueba estadística *Kruskal-Wallis* arrojó diferencias altamente significativas ($Kw= 37,56^{***}$). Se observan valores promedio aumentados en las concentraciones de calcio en las concreciones renales oxalato de calcio y concreciones mixtas de fosfato de calcio y oxalato de calcio.

Estos resultados, ponen de manifiesto la alta afinidad del ion calcio por los aniones oxalato y fosfato para formar sales insolubles, saturar la orina y favorecer la precipitación de cristales de oxalato de calcio, fosfato de calcio y la combinación de éstos, para constituir respectivamente, cálculos oxálicos, fosfáticos y mixtos de oxalato y fosfato. Además, debe señalarse que el oxalato de calcio posee un producto de solubilidad muy bajo ($K_{ps}= 2 \times 10^{-9}$), lo que podría explicar la precipitación de esta sal, de manera más fácil, en las orinas con pH ácido (Brow y Sallec, 1977; Lai *et al.*, 2022).

Otro aspecto importante a destacar en la Tabla 3 es la escasa concentración de calcio presente en los cálculos de ácido úrico, lo que pone en evidencia que este compuesto precipita en forma pura en el tracto urinario

originando concreciones urinarias únicas sin la participación significativa del calcio (Velásquez *et al.*, 1996; Adomako y Moe., 2020).

Finalmente, se debe señalar que los altos niveles de calcio encontrados en los cálculos de oxalato de calcio, fosfato de calcio, oxalato de calcio más ácido úrico y cálculos de fosfato de calcio más oxalato de calcio, están, probablemente, relacionados con aumentos en la secreción de la hormona paratiroidea y la producción de la vitamina D; ya que ambas producen aumento del ion calcio en el líquido extracelular como consecuencia de la resorción ósea de este catión y la absorción intestinal de calcio, respectivamente. Estas dos situaciones incrementan los niveles séricos de calcio y favorecen la saturación y su precipitación en el tracto urinario con la consecuente formación de las concreciones de oxalato de calcio en los pacientes urolitiásicos (Velásquez *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 2018).

El resumen estadístico de la prueba *Kruskal-Wallis* aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito cobre, cuantificados en las muestras de cálculos urinarios de pacientes de la ciudad de Cumaná, se muestran en la Tabla 4. Se observan diferencias no significativas al evaluar las concentraciones de cobre en las

concreciones renales analizadas en esta investigación.

La ausencia de diferencias significativas en la evaluación estadística de las concentraciones del ion cobre, medidas en las concreciones urinarias de los pacientes con urolitiasis, permite deducir que este elemento no participa significativamente, en el proceso de formación de sales urolíticas. Este hecho se evidencia en las bajas concentraciones del ion cobre observadas en los diferentes tipos de cálculos urinarios. Además, debe señalarse que este ion cuando se une al anión oxalato forma una sal que es muy soluble en la orina, lo que demuestra la poca participación que

tiene el cobre en la formación de sales litogénicas (Betancourt *et al.*, 1998; Covaet *et al.*, 1998; Velásquez *et al.*, 1999; Taha *et al.*, 2023).

La Tabla 5 muestra los valores promedio de las concentraciones del electrolito potasio cuantificado en las muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Se observan diferencias significativas con concentraciones promedio aumentadas de este ion en los cálculos de fosfato y menores en las concreciones de oxalato de calcio (Kw= 12,63*).

Tabla 3. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito calcio medido en muestras de cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Calcio					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CAU	11	0,14 – 4,97	2,16	1,91	
COXAU	5	100,00 – 245,37	169,00	54,90	
CP	9	171,60 – 331,40	259,00	54,20	37,56***
CPOX	3	263,00 – 323,50	286,00	32,40	
COX	25	256,50 - 357,90	315,00	29,60	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas.

Tabla 4. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito ($\times 10^{-3}$) cobre medido en muestras de cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Cobre					
	n	Intervalo	X	DE	KW
COXAU	5	1,00-2,00	1,46	0,27	
CAU	11	3,00-13,00	4,23	1,49	2,76ns
CPOX	3	0,00-13,00	4,67	2,03	
CP	9	0,00 – 10,00	5,78	0,79	
COX	25	2,00 – 15,00	5,94	1,56	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ns: diferencias no significativas

Tabla 5. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito potasio medido en muestras de cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Potasio					
	n	Intervalo	X	DE	KW
COX	25	0,10 – 2,20	0,56	0,10	
CAU	11	0,30 – 3,65	1,20	0,43	
CPOX	3	0,10 – 4,20	1,53	0,31	12,63*
COXAU	5	0,10 – 4,15	1,75	0,92	
CP	9	0,30 – 8,35	2,52	0,43	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; *: diferencias significativas

Las mayores concentraciones de potasio observadas en los cálculos urinarios de fosfato, tienen su explicación en la unión que se establece entre este catión monovalente y el anión fosfato. Contrario a esto, se debe

señalar la poca afinidad de este electrolito con el anión oxalato y el ácido úrico, lo que explica la baja concentración de potasio en los cálculos de oxalato, ácido úrico y los cálculos mixtos de oxalato y ácido úrico

(Betancourt *et al.*, 1998; Velásquez *et al.*, 1999).

Otras posibles explicaciones a estos hallazgos de potasio en las concreciones urinarias de fosfato, están relacionadas con un mayor consumo de sales potásicas en la dieta de estos individuos y con disminuciones de los procesos reabsortivos de potasio de estos pacientes, lo que conlleva a una saturación potásica de la orina de estos individuos (Cova *et al.*, 1998; Betancourt *et al.*, 1998; Castrillo, 1998).

Las concentraciones del ion magnesio

encontradas en las concreciones urinarias de pacientes de la ciudad de Cumaná, estado Sucre se observan en la Tabla 6. Esta tabla permite observar diferencias altamente significativas con concentraciones aumentadas de magnesio en las concreciones urinarias de fosfato de calcio y en los cálculos mixtos de fosfato de calcio y oxalato de calcio y concentraciones mínimas de este catión en las concreciones de ácido úrico y las mixtas de oxalato de calcio y ácido úrico.

Tabla 6. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito magnesio medido en muestras de cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Magnesio					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CAU	11	0,02 – 0,20	0,08	0,02	
COXAU	5	0,04 – 0,37	0,19	0,09	
COX	25	0,20 – 6,67	3,32	1,11	44,33***
CPOX	3	15,18 – 56,70	30,44	11,83	
CP	9	16,97 – 65,67	36,01	10,78	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de Kruskal-Wallis, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas.

Estos resultados permiten señalar que el anión fosfato posee mayor afinidad por el ion magnesio que el anión oxalato y el ácido

úrico, en los cuales las concentraciones de magnesio son muy bajas (Belmaret *et al.*, 2004). Otra explicación a los resultados obtenidos en

el presente estudio viene dada, probablemente, por el mayor consumo de alimentos que contienen magnesio tales como semillas de girasol, garbanzos, lentejas, frijol negro y rojo, arroz blanco y precocido, leche entera en polvo, quesos, ajo y plátano, entre otros, por parte de los pacientes urolitiásicos fosfático y mixtos que participaron en el presente estudio (Silva y Valverde, 2010).

Además, debe señalarse que el magnesio actúa como inhibidor de las sales de oxalato de calcio; ya que se une a los aniones, fundamentalmente, al oxalato, y lo transforma en oxalato demagnesio, mucho más soluble que el oxalato de calcio, a nivel urinario. El magnesio aumenta hasta 20 veces la solubilidad de las sales de oxalato. De esta forma, inhibe la nucleación heterogénea del oxalato de calcio sobre el fosfato de calcio (Ibarz *et al.*, 1981; Hallson *et al.*, 1982; Giebel, 1987; Grases *et al.*, 2015).

La Tabla 7, muestra los valores promedio de las concentraciones del electrolito zinc cuantificados en muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes de la ciudad de Cumaná. En la misma, se observan diferencias altamente significativas ($K_w = 24,50^{***}$). La mayor concentración promedio de este ion se encontró en los

cálculos de fosfato cálcico, mientras que la menor concentración la presentó las concreciones de ácido úrico ($K_w = 24,50^{***}$). Los resultados obtenidos en relación a las concentraciones de zinc en los cálculos urinarios analizados ponen de manifiesto las bajas concentraciones de este electrolito en las concreciones urinarias. Este hecho, tiene su explicación en la alta solubilidad que experimentan las sales de zinc en la orina de los pacientes urolitiásicos, lo que evita la constitución de sales de zinc, en forma significativa en los cálculos del tracto urinario. No obstante, se debe señalar que las concentraciones aumentadas de este ion en los cálculos de oxalato de calcio y fosfato de calcio son poco comunes en los pacientes urolitiásicos (Velásquez *et al.*, 1995; Betancourt *et al.*, 1998; Cova *et al.*, 1998).

La Tabla 8 muestra los valores promedio de las concentraciones del electrolito manganeso, cuantificados en las muestras de cálculos urinarios de pacientes de la ciudad de Cumaná. La aplicación de la prueba estadística Kruskal-Wallis no arrojó diferencias significativas ($k_w = 5,28$ ns) al evaluar este parámetro en las concreciones urinarias estudiadas.

Tabla 7. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito zinc ($\times 10^{-3}$) medido en muestras de cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Zinc					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CAU	11	0,00 – 0,06	0,01	0,01	
COXAU	5	0,01 – 0,59	0,18	0,06	
CPOX	3	0,04 – 0,82	0,34	0,12	24,50***
COX	25	0,00 – 1,05	0,35	0,08	
CP	9	0,23 – 0,55	0,41	0,10	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas

Tabla 8. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito manganeso ($\times 10^{-3}$) medido en muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Manganeso					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CP	9	0,00 – 4,00	0,89	0,20	
CAU	11	0,00 – 6,50	1,72	0,44	5,28ns
CPOX	3	1,00 – 3,00	2,33	0,15	
COX	25	0,00 – 10,00	2,52	0,77	
COXAU	5	0,00 – 6,00	3,80	0,79	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ns: diferencias no significativas.

La ausencia de diferencias significativas del ion manganeso en los cálculos urinarios, al igual que la evaluación del ion cobre en estas concreciones, permiten señalar la escasa participación del manganeso en la formación de sales oxálicas, úricas y fosfáticas con ese catión divalente. Además, estos resultados ponen en evidencia que la orina de los pacientes urolitiásicos no contiene concentraciones significativas de manganeso, por lo que sus niveles no saturan la orina y en consecuencia, no forman sales urolíticas (Hofbauer *et al.*, 1991).

La presencia de ciertos oligoelementos en la orina también puede favorecer la litogénesis. Así, se ha visto que existe una relación evidente entre la presencia en la orina de hierro y cobre, la ausencia o mínima presencia en la misma de manganeso, y la formación de cálculos de oxalato de calcio (Arrabal *et al.*, 1987).

La Tabla 9 muestra las concentraciones promedio del electrolito sodio cuantificado en concreciones urinarias provenientes de pacientes de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. En ella se observa que la mayor concentración promedio de este catión se encuentra en los cálculos de fosfato y las menores concentraciones en las concreciones de ácido úrico y oxalato. La aplicación de la prueba estadística Kruska-Wallis arrojó

diferencias altamente significativas ($K_w=22,37^{***}$) al evaluar este parámetro en las concreciones urinarias analizadas en el presente estudio.

Las diferencias altamente significativas encontradas en las concentraciones del ion sodio medidas en los cálculos urinarios permiten señalar que las mismas son debido casi exclusivamente a las altas concentraciones de este catión en las concreciones urinarias fosfáticas, ya que el resto de los tipos de cálculos presentan concentraciones muy bajas de sodio debido a que el cloruro de sodio (compuesto que se filtra fácilmente por los glomérulos y constituye la principal forma de sodio presente en la orina) es una sal muy soluble y abundante en la orina, pero se encuentran en muy bajas concentraciones en los cálculos urinarios debido a la alta solubilidad en el filtrado glomerular (Betancourt *et al.*, 1998).

Las concentraciones del ion fosforo, encontradas en las concreciones urinarias provenientes de pacientes de la ciudad de Cumaná, estado Sucre se observan en la Tabla 10. Esta tabla permite observar concentraciones aumentadas de fósforo en las concreciones urinarias de fosfato de calcio y concentraciones mínimas de este ion en las concreciones de ácido úrico y las mixtas de oxalato de calcio y ácido úrico ($K_w=$

44,26***).

Tabla 9. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito sodio medido en muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

sodio					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CAU	11	0,25 – 11,70	1,73	0,31	
COX	25	1,00 – 6,50	2,95	0,71	
CPOX	3	0,85 – 8,95	4,55	1,90	22,37***
COXAU	5	0,10 – 16,45	6,20	2,58	
CP	9	4,55 – 11,60	7,89	1,26	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas.

Tabla 10. Resumen estadístico de la prueba estadística Anova simple aplicada a los valores promedio de las concentraciones del electrolito fósforo medido en muestras de cálculos urinarios provenientes de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre

Fósforo					
	n	Intervalo	X	DE	KW
CAU	11	0,53 – 4,71	1,36	0,20	
COXAU	5	0,68 – 4,71	2,99	0,52	
COX	25	3,54 – 67,65	35,60	10,90	44,26***
CPOX	3	100,72 – 237,70	152,00	24,70	
CP	9	212,77 – 275,36	247,00	24,90	

n: número de muestras, X: valor promedio, DE: desviación estándar, KW: prueba de *Kruskal-Wallis*, COX: cálculos de oxalato de calcio; CAU: cálculos de ácido úrico; CP: cálculos de fosfato; COXAU: cálculos de oxalato de calcio + ácido úrico; CPOX: cálculos de fosfato de calcio + oxalato de calcio; ***: diferencias altamente significativas.

Las altas concentraciones de fósforo encontradas en los cálculos fosfáticos pueden tener su explicación, probablemente, en un aumento de la secreción de la hormona paratiroidea, la cual incrementa la resorción de fosfato a nivel óseo y disminuye su reabsorción a nivel de los túbulos renales, condicionado la saturación de este ion en la orina y favoreciendo su precipitación en el tracto urinario, con la consecuente formación de cálculos en esta estructura (Coe y Favus, 1989).

La formación de cálculos urinarios mixtos de oxalato y fosfato, está relacionada, en gran parte, al producto de infecciones recurrentes provocada por ciertos organismos productores de la enzima ureasa, la cual degrada la urea a amoníaco (NH_3) y dióxido de carbono (CO_2), el NH_3 se hidroliza a ion amonio (NH_4^+) y aumenta el pH urinario hasta valores de 8,00-9,00, favoreciendo la precipitación de las sales fosfáticas, las cuales se depositan sobre el núcleo de oxalato ya formado y origina las concreciones urinarias mixtas de oxalato-fosfato (Mossry y Glassock, 1985).

Los cálculos de ácido úrico, poseen menor concentración de los electrolitos

analizados debido a que este ácido en forma libre, no disociado, es mucho menos soluble que el urato monohidrogenado. Por esta razón, el ácido úrico no disociado posee una mayor probabilidad de formación de concreciones urinarias.

Otra posible explicación a la baja concentración iónica en los cálculos de ácido úrico, viene dada por el hecho de que la unión ácido úrico-iones es por un enlace de coordinación, en el cual el ion central puede permitir la unión de varias moléculas de ácido úrico a su alrededor, de manera que cuando precipita el ácido úrico, habrá muchas moléculas de este compuesto y poca concentración iónica en estos cálculos urinarios. Estos resultados concuerdan con lo expresado por Dosch (1981) y Mossry y Glassock (1985), quienes encontraron pequeñas proporciones de magnesio y calcio en este tipo de concreciones.

CONCLUSIONES

Los iones calcio, magnesio, sodio, fósforo, zinc y potasio participan significativamente en los procesos de sobresaturación, precipitación, agregación y formación de los cálculos en el tracto urinario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ADOMAKO, E. and Moe, O. 2020. Uric acid and urate in urolithiasis: The innocent bystander, instigator, and perpetrator. *Semin Nephrol.* 40(6):564-573.
- ARRABAL, M., Rodríguez, T., Pedrajas, A., Aguilar, J., Martín, G. y Tallada, M. 1987. Presencia de oligoelementos en cálculos urinarios. Litogénesis. *Arch. Esp. Urol.* 40:101.
- BELMAR, D., Lemus, M., Velásquez, W., Belmar, M. y Zapata, C. 2004. Variaciones hemogasodinámicas, electrolíticas y hematológicas en pacientes urolitiásicos. *Saber.* 16(2):105-110.
- BETANCOURT, J., Cruces, P. y Velásquez, W. 1998. Concentraciones de sodio, potasio, cobre, manganeso y zinc en cálculos urinarios de oxalato, ácido úrico, fosfato y mixtos. *Act. Cient. Venezol.* 48(2):276.
- BROW, G. y Sallee, E. 1977. Química Cuantitativa. Editorial Reverte, España.
- CASTRILLO, J. 1988. Litiasis renal. *Av. Nefrol. Infec. Urin.* 4:82.
- CHAPMAN, H. and Pratt, P. 1961. Methods of analysis for soils, plants and water. University of California. Division of Agricultural Sciences, California, USA.
- COE, F. and Favus, M. 1989. Nefrolitiasis in: Braunwald, E.; Wilson, J.; Martín, J. y Kasper, D. Principios de Medicina Interna. Interamericana McGraw-Hill, España.
- COE, F., Worcester, E. and Evan, A. 2016. Idiopathic hypercalciuria and formation of calcium renal stones. *Nat. Rev. Nephrol.* 12(9):519-33.
- COVA, A., Velásquez, W. y Ugas, G. 1998. Variaciones iónicas en cálculos urinarios de oxalatos, ácido úrico, fosfato y mixtos. *Act. Cient. Venezol.* 48(2):275.
- DAS, P., Gupta, G., Velu, V., Awasthi, R., Dua, K. and Malipeddi, H. 2017. Formation of struvite urinary stones and approaches towards the inhibition-A review. *Biomed. Pharmacother.* 96:361-370.
- DAUDON, M., Bader, C. and Jungers, P. 1993. Urinary calculi: review of classification methods and correlation with etiology. *S. & M.* 7:1081.
- DOSCH, W. 1981. New Urates (II): Uric acid dehydrate. *Fortschritte Urol. Nephrol.* 17:254.
- GARRATT, D. 1960. Methods for destruction of organic matter. *Analyst.* 85:643-656.
- GIEBEL, W. 1987. Sport in der pravention und therapie von harns einerkrankungen. *Sportmedizin. Z. Ärztl. Fortbild.* 81:1261.
- GRASES, F., Rodríguez, A. and Costa-Bauza, A. 2015. Efficacy of mixtures of magnesium, citrate and phytate as calcium oxalate crystallization inhibitors in urine. *J. Urol.* 194(3):812-819.
- HALLSON, P., Rose, G. and Sulaiman, S. 1982. Urate does not influence the formation of calcium oxalate crystals in whole human urine at pH 5,3. *Clin. Sci.* 62:421.
- HESSE, A., Berg, W. and Bothor, C. 1979. Scanning electron microscopic investigation on the morphology and phase conversions of uroliths. *Int. Urol. Nephrol.* 11:11.

- HOFBAUER, J., STEFFAN, I., HOBARTH, K., VUJICIC, G., SCHWETZ, H. and REICH, G. 1991. Trace elements and urinary stone formation: new aspects of the pathological mechanism of urinary stone formation. *J. Urol.* 145(1):93.
- HOFFMAN, A., BRAUN, M. and KHAYAT, M. 2021. Kidney disease: Kidney stones. *FP Essent.* 509:33-38.
- IBARZ, J., ARQUILLUE, A., GRACIA, S. y NOGUERAS, M. 1981. Magnesio y litiasis renal. *Reun. Reg. Asoc. Esp. Urol.* 2:251.
- JACKSON, M. 1964. Análisis Químico de los Suelos. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España.
- JENKINS, R. and SNYDER, R. 1996. Introduction to X Ray Power Diffractometry. Wiley-Interscience Pub., New York, USA.
- KHAN, S., CANALES, B. and DOMINGUEZ-GUTIERREZ P. 2021. Randall's plaque and calcium oxalate stone formation: role for immunity and inflammation. *Nat. Rev. Nephrol.* 17(6):417-433.
- KHAN, S., PEARLE, M., ROBERTSON, W., GAMBARO, G., CANALES, B., DOIZI, S., TRAXER, O. and TISELIUS, H. 2016. Kidney stones. *Nat. Rev. Dis. Primers.*, 2: 16008.
- KUSTOV, A., STRELNIKOV, A., MORYGANOV, M., AIRAPETYAN, A., SMIRNOV, P., LYALYAKINA, E. and TOMS, S. 2017. Mineralogical composition of urinary stones, risk factors and metabolic disturbances in patients with calcium-oxalate urolithiasis. *Urologiia.* 23(4):22-26.
- LAI, Y., ZHENG, H., SUN, X., LIN, J., LI, Q., HUANG, H., HOU, Y., ZHONG, H., ZHANG, D., FUCAI, T and HE, Z. 2022. The advances of calcium oxalate calculi associated drugs and targets. *Eur. J. Pharmacol.* (15): 935.
- LOTAN, P., HENDEL, H., BABAOFF, R., TOR, R., BEN-MEIR, D., MORAG, R. y LIFSHITZ, D. 2023. Pediatric age-related distribution of calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate in urinary tract stones: Metabolic, Gender, and ethnic correlates. *J. Endourol.*, 37(8): 928-934.
- MOHAMED, A. and ARUNAI, N. 2008. Tensile, flexural and compressive strength studies on natural and artificial phosphate urinary stones. *Urol. Res.* 36(6):289-295.
- MOSSRY, S. y GLASSOCK, R. 1985. Nefrología. Editorial Científico Técnica, La Habana, Cuba.
- PEREZ, A., SCHNEIDER, D., LONG, K., PITT, S and SIPPEL, R. 2018. Timely evaluation and management of primary hyperparathyroidism in patients with kidney stones. *J. Surg. Res.* 232:564-569.
- SCHMIEDL, A., SCHWILLE, P., BONUCCI, E., ERBEN, R., GRAYCZYK, A. and SHARMA, V. 2000. Nephrocalcinosis and hyperlipidemia in rats fed a cholesterol- and fat-rich diet: association with hyperoxaluria, altered kidney and bone minerals, and renal tissue phospholipid-calcium interaction. *Urol. Res.* 28(6):404-415.
- SILVA, P. y VALVERDE, E. 2010. Validación de la metodología de cuantificación del magnesio por espectroscopía de absorción atómica de llama en la canasta básica de Costa Rica. *Rev. Costarric. Sal. Pub.* 19(1):36-41.
- SOKAL, R. y ROHLF, F. 1979. Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. Ed. H. Blume

Ediciones, EEUU.

TAHA, S., Shokeir, A., Mortada, W., Awadalla A. and Barakat L. 2023. Effect of copper and zinc ions on biochemical and molecular characteristics of calcium oxalate renal stones: a controlled clinical study. *Biol. Trace Elem. Res.* 16(1):

VELÁSQUEZ, W., Belmar, M., Ugas, G. y Zabala, F. 1996. Composición química de los cálculos en los pacientes urolitiásicos. *Act. Cient. Venezol.* 46(1):161.

VELÁSQUEZ, W., Cova, A., Vargas, A., Betancourt, J. y Espín A. 1999. Relación tamaño-concentración iónica en cálculos urinarios de oxalato, fosfato y ácido úrico. *Act. Cient. Venezol.* 49(2):287.

VELÁSQUEZ, W., De Belmar, W. y Belmar, M. 1995. Variaciones de los iones séricos y de metabolitos intermediarios en la urolitiasis. *Acta Cient. Venezol.* 45(1):117.

VELÁSQUEZ, W., Vargas, A., García, A., Velásquez, D., Márquez-Segura, L. y Sosa, R. 2022. Variaciones de elementos y compuestos inhibidores y facilitadores de la precipitación cristalina en relación al tipo de cálculo en pacientes urolitiásicos. *Servolab Sci. News.* 1(1):18-31.

WALLACE, B., Chmiel, J., Al, K.; Bjazevic, J., Burton, J., Goldberg, H. y Razvi, H. 2023. The role of urinary modulators in the development of infectious kidney stones. *J. Endourol.*, 37(3): 358-366.

ZHANG, X., Lei, X., Jiang, Y., Zhao, L., Zou, C., Bai, Y., Li, Y., Wang, R., Li, Q., Chen, Q., Fan, M., Song, Y., Zhang, W., Zhang, Y., Li-Ling, J. and Xie, H. 2023. Application of metabolomics in urolithiasis: the discovery and usage of succinate. *SignalTransduct. Target Ther.* 8(1): 41.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

FONTUS es una revista semestral, multidisciplinaria y pluricultural, que considera para su publicación trabajos originales en las formas de: **artículos** (describen un estudio completo y definitivo); **notas** (consistentes en un estudio completo, pero más corto que el artículo y se refieren a nuevos hallazgos o importantes modificaciones de técnicas descritas); **revisiones** (artículos solicitados por invitación del Comité Editor, que comentan la literatura sobre un tema especializado); **ensayos** (tratan de informaciones u opiniones sobre temas de actualidad o prioritarios para la revista); **reseñas** (trabajos breves que comentan textos o libros de diversos campos de la producción intelectual y son solicitados por el Comité Editor); **cartas a los Editores** (contienen comentarios útiles acerca del material publicado en FONTUS y su publicación dependerá de la decisión del Comité Editor).

Los trabajos sometidos a la revista FONTUS deberán ceñirse a los siguientes requisitos:

1. Situarse dentro de los principios que rigen el tipo de publicación, ser originales, inéditos, haber sido elaborados especialmente para la revista FONTUS y ser contribución importante en la materia desarrollada.

2. El texto del trabajo no debe exceder de 30 páginas tamaño carta

(21,5 cm x 28 cm), letra Times New Roman con un tamaño de 12 pts., a espacio y medio, y con márgenes de 2,5 cm en cada lado.

3. El trabajo debe enviarse vía electrónica a revistafontus@gmail.com, escrito en Word para Windows u otro procesador de texto según las características del trabajo, acompañado de cualquier tipo de ilustración que lo complemente.

Al inicio del texto del trabajo debe escribirse un resumen en castellano y un “abstract” en inglés. Ambos deben describir en un solo párrafo, sin sangría, a interlineado sencillo, no mayor de 250 palabras, los aspectos más resaltantes de la investigación. Al final de ambos, deben escribirse cuatro (4) palabras en castellano (palabras claves) o en inglés (*Key Words*) que identifique el tópico.

4. El título debe escribirse en castellano (en letras mayúsculas) e inglés (en letras minúsculas y en la siguiente línea), en ambos casos, centrado e interlineado sencillo, y describirá la esencia del trabajo de manera clara y concisa.

5. El orden de los apartes o secciones de los trabajos, salvo excepciones propias de cada especialidad, área, tema tratado o tipo de trabajo será el siguiente: título, autor(es), dirección(es), resumen, palabras claves, abstract, *key words*, introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones, agradecimiento (opcional) y referencias bibliográficas.

FONTUS

6. Todos los autores (as) deben ser listados por su nombre completo, dejando un espacio debajo del título, centrado e interlineado sencillo.

La afiliación institucional de los autores (as) debe ser señalada mediante numerales superíndices y con un asterisco superíndice el autor(a) para correspondencia, también debe indicar la dirección electrónica de cada autor. En ambos casos, centrados e interlineado sencillo.

7. Es responsabilidad de los autores el citar las fuentes u organismos que financiaron los trabajos que dieron lugar a su manuscrito, si así es el caso.

8. Las tablas y figuras (fotos, dibujos, gráficos y mapas digitalizados en formato .jpg, .bmp o .tiff), serán enumerados con números arábigos. Los títulos de las tablas deben escribirse en la parte superior. Las figuras se enumerarán en la parte inferior junto la correspondiente leyenda.

9. Las acotaciones y notas explicativas numeradas e indispensables, deben ir al final del texto. No debe usarse pie de página.

10. Las citas o referencias en el texto se harán tomando en cuenta el apellido de los autores y el año de publicación, por ejemplo:

a. Rodríguez (2007), García y Ojeda (1995).

b. Pérez *et al.* (1999), si son más de dos autores.

c. (Rodríguez, 2007), (García y Ojeda, 1995), (Pérez *et al.*, 1999), cuando el apellido de los autores no forme parte del texto de la oración y vaya al final de la misma.

d. Rodríguez (1974a), Rodríguez (1974b), García y Ojeda (1980a, b). Si

se hace referencia a varios artículos de un autor o varios autores, publicados el mismo año.

e. Si son varias citas entre paréntesis referentes a un mismo aspecto, se deben presentar en orden cronológico, por ejemplo: (García y Ojeda, 1985; Pérez *et al.*, 1999; Rodríguez, 2007).

f. Cuando las citas sean textuales, se deberá indicar entre paréntesis el año, dos puntos (:) y la(s) página(s). Ejemplo Portillo (2005:23); (Portillo (2005:23-24). Las citas textuales cortas, menores a cuarenta palabras, se insertarán en el propio texto del artículo, conservando el mismo interlineado y usando las comillas para distinguirlas. Las citas textuales largas, mayor o igual a cuarenta palabras, deben distinguirse como un párrafo aparte, sin comillas, con interlineado sencillo y con sangría de 2,5 cm por ambos lados (izquierda-derecha).

11. Las referencias bibliográficas deben ser expresadas de acuerdo con el estilo siguiente:

a. Deben colocarse en orden alfabético, con interlineado sencillo y con una línea de separación entre cada referencia.

b. Artículos: apellido del primer autor(a), seguido de iniciales de su nombre, todo en MAYÚSCULA; apellido e iniciales de cada coautor(a), mayúscula solo al inicio de apellidos e iniciales de nombre, punto; año de publicación seguido de un punto, título del artículo seguido de un punto; nombre de la publicación científica o humanística abreviado (en cursivas) según las

normas internacionales, volumen en cursiva, número del volumen si existe, entre paréntesis y dos puntos antes de la paginación.

Ejemplo:

ARIMOND, J.D. and Ruel, M. 2004. Dietary diversity is associated with child nutritional status. *J. Nutr.* 134(2):2579-2585.

Cuando el número de autores sea superior a dos investigadores, se procede de acuerdo al siguiente ejemplo:

RUIZ-ALLAIS, J., Amaro, M., Mcfadden C., Halász, A. and Benayahu Y. 2014. The first incidence of an alien soft coral of the family Xeniidae in the Caribbean, an invasion in eastern Venezuelan coral communities. *Coral Reefs.* 33(2):287.

- c. Libros y capítulos de libros: autor(a), igual al formato de artículos, años de publicación, título de la obra, casa editora, ciudad de publicación, país y número de páginas, solo si se trata de un capítulo de libro con autor(a). Ejemplo:

ALFONZO-GUZMÁN, R. 2000. Nueva Metodología del Derecho del Trabajo. 11^a Edición. Editorial Melvin, Caracas, Venezuela.

HABERMAS, J. 2001. El derecho como categoría de la mediación social entre facticidad y validez. En *Facticidad y Validez*. 3^{era} Edición, Editorial Trotta. Madrid, España. Pp.63-103.

- d. Trabajos de Grado, Ascensos y Tesis Doctorales.

SILVA, H. 2007. Calidad Sanitaria de la cuenca hidrográfica del río Cataniapo, municipio Atures, estado Amazonas. Trab. de Grado. Lcdo. Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

COLÓN, M.C. 2008. Elementos discursivos empleados en producciones narrativas orales y escritas por niños cursantes del 3^{er} grado de educación primaria, caso: Escuela Bolivariana “Cristóbal de Quezada”, año 2005-2006. Trab. Grado, M.Sc. Educación mención Enseñanza del Castellano. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

ROJO, Y. 2007. Relación Instituto Universitario de Tecnología del estado Trujillo con el sector productivo. Tesis Doctorado en Ciencias Humanas. Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

VILLALOBOS, L.B. 1999. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI) aisladas de un producto cárnico. Trab. Asc. Prof. Agregado. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

- e. Referencias electrónicas.

Debe evitarse el uso excesivo de este tipo de referencias; en tales casos estas deben incluir: autor(es), año, título, lugar de origen e institución que la respalda, cita de la búsqueda y fecha en que se realizó la consulta.

Ejemplo:

BONI, A. y Ferreiro, G. 1998. Definición, tipología y características

FONTUS

de las ONG Fundación hogar del empleado. <http://www.fuhem.es/CIP/EDUCA/ong1.htm>> (14 -05-2004).

12. Se aceptan trabajos en castellano, portugués o inglés. En todos los casos el uso del idioma debe ser apropiado a las características de la revista.

13. Todo trabajo es revisado por el Comité Editor y luego sometido a revisión crítica de al menos dos especialistas. Los autores(as) reciben, tanto en los casos de aprobaciones, solicitudes de modificaciones, como en los casos de rechazos, las opiniones de los árbitros consultados.

14. No serán considerados para iniciar el proceso de arbitraje los

trabajos no atendidos a estas instrucciones.

15. El trabajo enviado debe ir acompañado de carta firmada por el autor remitente, expresando su voluntad de que se considere el trabajo para su publicación e indicando un número de teléfono de contacto y su dirección electrónica.

16. La decisión proveniente de los árbitros será inapelable.

Cumaná, junio 2025.

FONTUS

PRINCIPIOS QUE DEFINEN A LA REVISTA FONTUS

1. FONTUS es una revista académica multidisciplinaria y pluricultural. Su objetivo fundamental es la divulgación de publicaciones universitarias y de interés regional, nacional e internacional, que definitivamente propugnen la defensa y difusión de los derechos humanos, del medio ambiente, de la convivencia democrática, de las corrientes del pensamiento humanista y la profundización del nivel cultural universitario y social.

2. En razón de su naturaleza multidisciplinaria, FONTUS promueve la diversidad metodológica como un reconocimiento de la alteridad y la diferencia existente en los modos de investigación. En consecuencia, no será portavoz de puntos de vista hegemónicos y dogmáticos en la producción del conocimiento.

3. De conformidad con su orientación pluricultural, FONTUS es una tribuna abierta a la difusión del patrimonio cultural de la humanidad. Por tanto, no se hará eco de producciones que estimulen la discriminación o la superioridad de cultura alguna o que tiendan a debilitar el contenido simbólico de los imaginarios culturales de los pueblos.

4. La profundización del nivel cultural está dirigida a estimular la superación de las condiciones que limitan u obstaculizan la independencia o la autonomía nacional en el plano

político, económico, científico-tecnológico, ambiental y social. En este sentido, FONTUS ofrece sus páginas a todo aquel que pretenda hacer un aporte innovador, serio, documentado, profundo, original y responsable.

5. FONTUS elude la vinculación proselitista con cualquier tendencia política intra o extrauniversitaria, individual, grupal o partidista local o nacional, lo cual no obsta para que, a manera de información o de opinión, temas políticos puedan ser tratados con respeto y calidad, sin caer en provocaciones o descalificaciones de personales directas o soslayadas. En el sentido expuesto, serán bien recibidos artículos relativos a las bases filosóficas del marxismo, del capitalismo, del neoliberalismo, de la globalización o de las actuales tendencias políticas en Venezuela o Latinoamérica, así como los relativos a la formación e historia de los partidos políticos, a las relaciones gobierno-organismos supra-nacionales; siempre que su tratamiento se haga conforme a los elementos objetivos y debidamente fundamentados.

6. FONTUS no es instrumento mediatizado o mediatizador, mixtificado o mixtificador, mitificado o mitificador, de ninguna idea o tendencia en particular. Antes bien, contribuye a descubrir los elementos que encubiertamente conducen a detener el progreso universitario y local.

7. Es un órgano de difusión cultural asociativo, en torno a los mejores ideales académicos.

8. FONTUS es una revista auspiciada por la Asociación de Profesores de la Universidad de

FONTUS

Oriente, Núcleo de Sucre (APUDONS), recibe y agradece el patrocinio de esta y del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, y comparte el objetivo común de dignificar la condición académica mediante el noble trabajo universitario. A partir de este relanzamiento, FONTUS recibe la colaboración de la Fundación Universitaria CAFAM, con sede en la República de Colombia.

9. No participa de las luchas gremiales coyunturales ni es portavoz de ellas. Aprecia el apoyo económico y el respeto a la autonomía intelectual y económica por parte de las instituciones patrocinantes, condiciones

indispensables para llevar a la realidad los principios aprobados unánimemente por el Comité Editor.

10. Es expresión del trabajo intelectual de la comunidad universitaria del Núcleo de Sucre; pero solicita y acepta la participación de colaboradores externos a él.

11. Finalmente, FONTUS es una revista arbitrada. Todo artículo será sometido a la revisión crítica de especialistas en el área correspondiente. El proceso de arbitraje será anónimo y los árbitros podrán ser internos o externos al comité.

FONTUS

CONTENTS FONTUS, N^{os} 18 y 19 (2025)

	Pág.
Editorial	03
Skin	
Skin of Dr. Jesús W. Bastardo G. (1938-2022).....	05
Natural Sciences	
Protocol for the control and mitigation of the invasive soft coral <i>Unomia stolonifera</i> (Alcyonacea, Xeniidae). Salazar, Sinatra K., Lárez, Carol Y., Arcia, Migdalia M., Montes Andrés.....	08
Contribution to the knowledge of the morphological aspects of the invasive coral <i>Unomia stolonifera</i> (Octocorallia: Alcyonacea). Lárez López Carol Yovana, Salazar Sinatra Katherine, Montes Mata Andrés Antonio, Penott Maita Ruben Dario, Vallenilla González Osmicar Manuel, Arcia Barreto Migdalia Maríay Morales Esparragoza Josefa Antonia.....	16
Basic Sciences	
Optimal control of systems governed by nonlinear partial differential equations singularly perturbed. Manuel V.Centeno-Romero, Fernando J. Marval L., Armando L. Anselmi E. y José F. Lockiby A.....	24
Biomedicine	
Serum variations in creatinine, urea and glycemia before and after hemodialysis in patients with chronic kidney disease in the dialysis unit of the Antonio Patricio de Alcalá university hospital in the city of Cumaná, Sucre state. América Belén Vargas Milano, William José Velásquez Sanzonetti, Lucemilys Del Carmen Salazar Butto y Vanessa Carolina Marín Acuña.....	38
Characterization of leukocytes in juveniles of cachamoto (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachypomus</i>) under culture conditions. Yanet Anton-Marín, Claudysbel Hernández-Amundarain y Raquel Salazar-Lugo.	47
Ionic variations, in relation to the type of crystal, in urinary stones of urolithiatic patients from the city of Cumaná, Sucre state. William José Velásquez Sanzonetti, José Manuel Rodríguez Dicurú, Alexis Cova, América Belén Vargas Milano, Leonela de los Ángeles Gutiérrez Milano, Vanessa Virginia Velásquez Figueroa, Dixson José Velásquez Sanzonetti, Solanmy María Patiño Velásquez.....	73
Instructions for Authors	90
Principles that define the Fontus journal	93

FONTUS

CONTENIDO FONTUS, N^{os} 18 y 19 (2025)

	Pág.
Editorial	03
Semblanza	
Semblanza del Dr. Jesús W. Bastardo G. (1938-2022)	05
Ciencias Naturales	
Protocolo para el control y mitigación del coral blando invasor <i>Unomia Stolonifera</i> (Alcyonacea, Xeniididae). Salazar, Sinatra K., Lárez, Carol Y., Arcia, Migdalia M., Montes Andrés.....	08
Contribución al conocimiento de aspectos morfológicos del coral invasor <i>Unomia Stolonifera</i> (Octocorallia: Alcyonacea). Lárez López Carol Yovana, Salazar Sinatra Katherine, Montes Mata Andrés Antonio, Penott Maita Ruben Dario, Vallenilla González Osmicar Manuel, Arcia Barreto Migdalia Mariay Morales Esparragoza Josefa Antonia.....	16
Ciencias Básicas	
Control óptimo de sistemas gobernados por ecuaciones no lineales en derivadas parciales, singularmente perturbadas. Manuel V. Centeno-Romero, Fernando J. Marval L., Armando L. Anselmi E. y José F. Lockiby A.....	24
Biomedicina	
Variaciones séricas de creatinina, urea y glicemia antes y después de la hemodiálisis en pacientes con enfermedad renal crónica de la unidad de diálisis del Hospital Universitario Antonio Patricio De Alcalá de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. América Belén Vargas Milano, William José Velásquez Sanzonetti, Lucemilys Del Carmen Salazar Butto y Vanessa Carolina Marín Acuña.....	38
Caracterización de leucocitos en juveniles de Cachamoto (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachypomus</i>) en condiciones de cultivo. Yanet Anton-Marín, Claudysbel Hernández-Amundarain y Raquel Salazar-Lugo.	47
Variaciones iónicas, en relación al tipo de cristal, en cálculos urinarios de pacientes urolitiásicos de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. William José Velásquez Sanzonetti, José Manuel Rodríguez Dicurú, Alexis Cova, América Belén Vargas Milano, Leonela de los Ángeles Gutiérrez Milano, Vanessa Virginia Velásquez Figueroa, Dixon José Velásquez Sanzonetti, Solanmy María Patiño Velásquez.....	73
Instrucciones para los autores	90
Principios que definen la revista Fontus	93