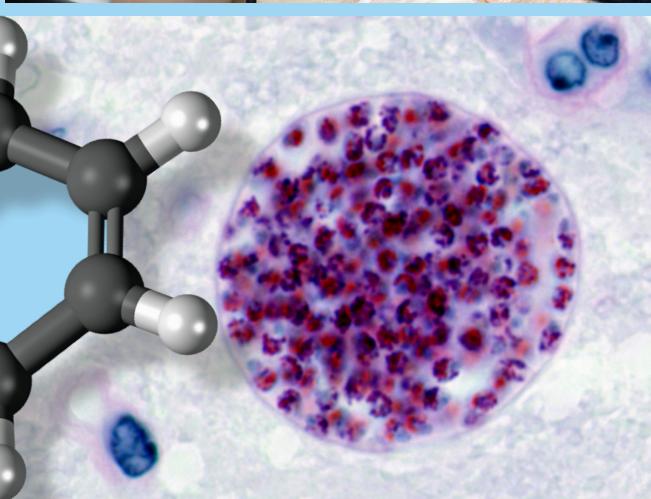


INTER SCIENTIFIC

INQUIRY • NATURE • TECHNOLOGY • EVOLUTION • RESEARCH





DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA



BACHILLERATOS:
BIOLOGÍA · BIOTECNOLOGÍA
COMPUTADORAS · QUÍMICA

ASOCIADO:
COMPUTADORAS

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL COMMITTEE

Lizbeth Romero Pérez, Ph.D.
Coordinadora/Coordinator

Directora Departamento de Ciencias y
Tecnología/Director of Science and Technology
Department

Annette Vega Rodríguez, Ed.D.
Decana de Asuntos Académicos/ Dean of Academic
Affairs

Alberto Puente Rolón, Ph.D.
Catedrático Auxiliar, Biología/Assistant Professor,
Biology

José Rodríguez Santiago, MS
Catedrático Auxiliar, Biología/ Assistant Professor,
Biology

Frances Cortés Bello, Ed.D.
Directora Departamento de Enfermería/Director of
Nursing Department

Virginia Soto Rivera, MA
Catedrática Asociada, Inglés/ Associate Professor,
English

Colaboradores: Collaborators

Arnaldo Bravo Núñez, Ph.D.
Catedrático Asociado, Química/Associate
Professor, Chemistry

Margaret E. Toro Pérez, Ed.D.
Catedrática Universidad de Puerto Rico,
Recinto de Mayagüez/ Professor

Ricardo Infante Castillo, Ph.D.
Catedrático Universidad de Puerto Rico, Recinto
de Arecibo/ Professor

Roberto Robles Miranda
Artista Gráfico/ Graphic Artist

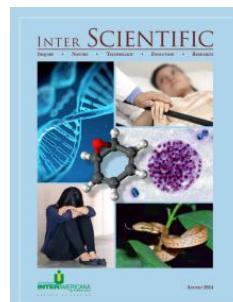
Rafael Morán González
Bibliotecario Profesional/ Professional Librarian

Coordinación General/General Coordination
Luz M. Cruz Candelaria, MSW
Instructora, Trabajo Social/ Instructor, Social Work

La revista académica Inter Scientific es una publicación anual de la Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo, institución de educación superior fundada en 1912 y 1957 respectivamente. Se concede autorización para reproducir gratuitamente contenido de la revista sólo para fines académicos no comerciales y se requiere que se especifique que dicha reproducción se realiza con el consentimiento del Comité Editor. El contenido y estilo de los artículos publicados son responsabilidad de los autores.

The academic journal Inter Scientific is an annual publication of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus, institution of higher education founded in 1912 and 1957 respectively. Permission is granted to freely reproduce the content of the journal only for noncommercial academic purposes and must specify that such reproduction has the consent of the Editorial Board. The content and style of the published articles are those of the authors.

PORTADA/ COVER



Combina imágenes de los temas abordados en este ejemplar.

Diseño:

Roberto Robles Miranda

Fotografía:

Rafael Colón González

Elmer Caldero Matos

Foto serpiente provista por:
Dr. Alberto Puente-Rolón

Illustration of the diversity of topics covered in this issue.

Design: Roberto Robles Miranda

Photography:

Rafael Colón González, Elmer Caldero Matos

Picture of snake provided by: Dr. Alberto Puente-Rolón



CONTENIDO

CONTENTS

MENSAJE DEL RECTOR/ MESSAGE FROM THE CHANCELLOR.....	1
---	---

MENSAJE DE LA DECANA DE ASUNTOS ACADÉMICOS/ MESSAGE FROM THE DEAN OF ACADEMIC AFFAIRS.....	2
---	---

DESDE EL ESCRITORIO DE LA EDITORA/ FROM THE EDITOR'S DESK.....	3
---	---

INVESTIGACIÓN/ RESEARCH ARTICLES.....	5-31
--	------

- **La efectividad de la terapia de grupo en el paciente con fallo renal crónico que presenta depresión en el primer año de tratamiento.....** 5

The effectiveness of group therapy in patients with chronic renal failure exhibiting depression in the first year of treatment

Acevedo-Franqui, Vivian

- **Las experiencias del profesional de enfermería y las actitudes hacia el paciente en etapa terminal.....** 15

Nursing experiences and attitudes towards end-stage patients

Hernández Corraliza, Leinyn

- **Evaluation of different methods for the isolation of genomic DNA from *Boa constrictor* tissue.....** 21

Evaluación de diferentes métodos para aislar ADN genómico de tejido de la *Boa constrictor*

Rivera-Ostolaza, Loraine, Irizarry-Rosario, Angélica, Santiago-Maldonado, Mariliz, and Romero-Pérez, Lizbeth

- **Cálculos teóricos de entalpías estándar de formación y energías de disociación de enlace en isómeros de monochloronitrobenceno.....** 26

Theoretical calculations of standard enthalpies of formation and bond dissociation energies on monochloronitrobenzene isomers

Vásquez Moll, Dennis

ARTÍCULOS DE REVISIÓN/ REVIEW ARTICLES.....	32-42
--	-------

- ***Toxoplasma gondii*: manipulation of rodents' behavior and the involvement in human schizophrenia.....** 32

Toxoplasma gondii: manipulación del comportamiento de los roedores y su rol en la esquizofrenia humana

Ortiz Maldonado, José R.

- **Status of the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*) after more than 40 years of its designation as an endangered species.....** 38

Estado de la Boa de Puerto Rico (*Chilabothrus inornatus*) luego de 40 años de su designación como especie en peligro de extinción

Puente Rolón, Alberto

LA INVESTIGACIÓN EN EL CAMPUS/ RESEARCH ON CAMPUS 43

Resumen de las investigaciones realizadas por nuestros estudiantes en el Recinto durante los últimos cinco años en los campos de bioquímica y biología molecular, genética, biotecnología de plantas, ecología y microbiología.

Summary of research conducted on campus by our students over the past five years in the fields of biochemistry and cell biology, genetics, plant biotechnology, ecology and microbiology.

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR/ BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

1-A Analysis of IL-8 levels in proliferative solid tumors and non-solid cancer

1-B Effect of thalidomide in the proliferation and secretion of vascular endothelial growth factor on human multiple myeloma cells

1-C Effects of thalidomide,

retinoic acid and prednisone in the proliferation of a human myeloma cell line

1-D Proteasome activity in multiple myeloma cancer cells treated with resveratrol

1-E *SURVIVIN* expression and secretion of pro-angiogenic factors as a possible mechanism of resistance to thalidomide treatment for multiple myeloma disease

1-F Establishment of an “in vitro” angiogenesis model: Evaluation of cytokines and growth factor released by HPAF II and RPMI 2668 cancer cells

1-G Study of proteasome activity in multiple myeloma cells treated with resveratrol

1-H Effect of *WHI4*, *FPR1*, *CPR1* and *YPL225w* gene deletions on cell morphology, budding and Myo1p localization of BY4741 *Saccharomyces cerevisiae*

GENÉTICA/ GENETICS

2-A Analysis of *SURVIVIN* expression in a multiple myeloma cell line model after exposure to thalidomide and retinoic acid using real-time pcr

2-B *CASPASE-3* gene expression in multiple myeloma cells under resveratrol treatment

2-C Expression of *SURVIVIN* gene in multiple myeloma cells treated with resveratrol

2-D Evaluation of different methods for the isolation of genomic DNA from *Boa constrictor* tissue

2-E Steps for cloning *hla* (alpha-toxin) gene from *Staphylococcus aureus*: implications for cancer therapy

2-F Effects of thalidomide and retinoic acid on *SURVIVIN* and *CASPASE-3* expression in NCI H929

2-G Effect of thalidomide and retinoic acid on *SURVIVIN* and *CASPASES-3* expression in RPMI-8226

2-H RPMI-8226 cells treated with resveratrol to determine expression and activation of caspase-3

2-I Effect of *KEL2* gene knock-out on *myo1p* in *Saccharomyces cerevisiae*

2-J Detection of *HOXB5* and *HOXC6* in muscle and embryo tissues of *Boa constrictor* by PCR

BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS/ PLANT BIOTECHNOLOGY

3-A Detection of *MT2a* and *MT2b* genes in the leaves of *Arabidopsis thaliana*

3-B Detection of genetically modified products derived from corn by PCR

3-C Accumulation of heavy metals in *Hydrocotyle umbellata L.* collected from el Caño Tiburones in Arecibo

3-D *Arabidopsis thaliana*: Cultivation and planting

3-E Determination of heavy metal concentrations in *Hydrocotyle umbellata* and *Salvinia minima* from Caño Tiburones by FAAS

ECOLOGÍA/ ECOLOGY

4-A Body size and reproduction of the invasive *Boa constrictor* in Puerto Rico

4-B Diet of the invasive *Boa constrictor* in Puerto Rico

4-C Evaluation of illegal pet trade of reptiles in Puerto Rico

MICROBIOLOGÍA/ MICROBIOLOGY

5-A Microflora asociada a la boa de Puerto Rico (*Chilabothrus inornatus*) y la corredora de Puerto Rico (*Borikenophis portoricensis*)

5-B Determinación de las propiedades antibióticas del extracto de ajo (*Allium sativum*)

5-C Comparison of external bacterial flora between newborns and adults of the Puerto Rican boa (*Chilabothrus inornatus*)

5-D Microflora asociada al chipojo de Puerto Rico (*Anolis cuvieri*)

5-E Densidad y diversidad de bacterias en la cueva de los Culebrones, Arecibo, Puerto Rico

POLÍTICAS EDITORIALES/ EDITORIAL POLICIES.....56

MENSAJE DEL RECTOR
DR. RAFAEL RAMÍREZ RIVERA



Es con enorme agrado que el Recinto de Arecibo presenta el primer ejemplar de su revista académica *Inter Scientific*. Esta iniciativa cristaliza un nuevo proyecto que descansa sobre la misión y metas de nuestro Recinto, en la que se enuncia el compromiso con la investigación y la difusión del conocimiento.

En armonía con esta visión, *Inter Scientific* tiene como propósitos cardinales, dos aspectos, el fomentar una cultura de investigación entre nuestro estudiantado, profesorado y académicos invitados; segundo, la divulgación de la marcha científica e intelectual en los campos de las Matemáticas, Ciencias Naturales, Salud y Tecnología.

Vivifica mi entusiasmo por emprender nuevos horizontes al mando del Recinto de Arecibo, la visión de que esta revista se convierta en un medio a través del cual se pueda proyectar a nuestros estudiantes y facultad al mundo científico y profesional. Esta publicación será el eje principal del Recinto para escribir sobre lo que se enseña y enseñar sobre lo que se hace mediante la investigación.

Una vez más, reafirmo mi firme convencimiento que la clave para convertir en realidad un sueño visionario es impartir pasión a todo aquello que emprendamos. Esperamos que ustedes abracen esta iniciativa y la hagan suya.

MESSAGE FROM THE CHANCELLOR
DR. RAFAEL RAMÍREZ RIVERA

It is with great pleasure that the Arecibo Campus presents the first volume of its academic journal *Inter Scientific*. This initiative crystallizes a new project founded on the commitment to research and the dissemination of knowledge as stated in the mission and goals of our Campus.

In keeping with our mission and goals, the purpose of *Inter Scientific* is twofold. First, its cardinal purpose is to promote a culture of research among our students, faculty, and invited academic guests; second, the dissemination of scientific and intellectual progress in the fields of Mathematics, Science, Health and Technology.

As Chancellor, my enthusiasm is enlivened as I envision new horizons for the Arecibo Campus; the vision that this journal will become a medium through which our students and faculty reach out to the scientific and professional community. This publication will be the focal point of our Campus for writing about what we teach and for teaching about what we do through research.

I reaffirm my belief that the key to transforming a visionary dream into reality is to infuse passion into every endeavor we undertake. We hope you also embrace our visionary dream and make it your own.

**MENSAJE DE LA
DECANA DE ASUNTOS ACADÉMICOS
DRA. ANNETTE VEGA**



Este proyecto de la revista científica del Recinto enmarca la meta de fomentar la investigación en facultad y estudiantes. Este primer volumen de *Inter Scientific* representa el esfuerzo y dedicación de un grupo de colaboradores que se forjaron una meta y lograron llevarla a cabo. Deseamos agradecer el esfuerzo de todos/as los/as colaboradores, facultad, estudiantes y personal administrativo que trabajaron para que la revista científica del Recinto de Arecibo fuera una realidad.

Agradecemos a la Profa. Wanda I. Balseiro, Profa. Luz M. Cruz, Dra. Lizbeth Romero, Dr. Alberto Puente, Profa. Virginia Soto, Sra. Wanda I. Pérez, Sr. Roberto Robles, Sra. María Ríos y Sr. Rafael Morán por el desarrollo del proyecto. Un especial agradecimiento al Dr. Rafael Ramírez Rivera, Rector del Recinto, por el apoyo e interés en el desarrollo de esta nuestra revista.

Finalizo este mensaje exhortándoles a participar de proyectos de investigación y publicar los mismos bajo una revista pensada y diseñada para cumplir con la rigurosidad de arbitraje en los artículos. Que este primer volumen les conduzca a la fascinante experiencia de la lectura en el ámbito científico.

**MESSAGE FROM THE DEAN OF ACADEMIC AFFAIRS
DR. ANNETTE VEGA**

The project of envisioning a scientific journal of our Campus is founded on our goal of promoting faculty and student research. This first volume of *Inter Scientific* represents the effort and dedication of a group of collaborators who set a goal and successfully accomplished it. We wish to acknowledge the efforts of all the faculty, students and staff that helped make the journal of the Arecibo Campus a reality.

We thank Prof. Wanda I. Balseiro, Prof. Luz M. Cruz, Dr. Lizbeth Romero, Dr. Alberto Puente, Prof. Virginia Soto, Miss Wanda I. Pérez, Mr. Roberto Robles, Ms. María Ríos and Mr. Rafael Morán for their collaboration in the project. We also extend a special acknowledgement to our Chancellor, Dr. Rafael Ramirez Rivera, for his continuous support throughout the development of the journal.

I end this message by encouraging readers to undertake research projects and to publish in *Inter Scientific*, a publication designed with the rigor and professionalism of a peer reviewed journal. I hope that this first volume draws you into the fascinating experience of reading in the field of science.

**DESDE EL ESCRITORIO DE LA EDITORA
DRA. LIZBETH ROMERO-PÉREZ**



La investigación se ha definido como una forma sistemática de explicar algún fenómeno observado; como una forma de aumentar el conocimiento; como la ruta para conseguir la respuesta a una pregunta importante. Estoy de acuerdo con todas esas definiciones, pero me gustaría añadir una más: la investigación es una forma de aprender y crecer. *Inter Scientific* es el resultado del trabajo y esfuerzo de muchas personas. A todos ellos y ellas: gracias por hacer de *Inter Scientific* una realidad. Esto es un proyecto mediante el cual nuestra facultad y estudiantes pueden compartir sus trabajos de investigación con ustedes.

Es con sumo placer que iniciamos la difusión de las investigaciones realizadas en nuestro Recinto. En la sección de Artículos de Investigación, presentamos dos proyectos relacionados al campo de la Salud: el primero, *La efectividad de la terapia de grupo en el paciente con fallo renal crónico que presenta depresión en el primer año de tratamiento*, en el cual se establece la vinculación que existe entre el fallo renal, terapia de grupo y depresión y el segundo artículo, *Las experiencias del profesional de enfermería y las actitudes hacia el paciente en etapa terminal*, examina la relación que existe entre las variables demográficas del profesional de Enfermería y su actitud hacia los pacientes en etapa terminal. Según avance en la lectura, encontrará información sobre la importancia del estudio genético de las especies en el artículo de investigación realizado por un grupo de estudiantes de nuestro Departamento de Ciencias y Tecnología: *Evaluación de diferentes métodos para aislar ADN genómico de tejido de Boa constrictor*. El artículo *Cálculos teóricos de entalpías estándar de formación y energías de disociación de enlace en isómeros de monocloronitrobenceno* compara datos de modelos teóricos con datos obtenidos de la investigación. La relación entre el parásito *Toxoplasma gondii* y la esquizofrenia humana se aborda en el artículo de revisión del profesor José R. Ortiz Maldonado. Por su parte, el doctor Alberto Puente Rolón presenta el estado de conservación de la Boa puerorriqueña cuarenta años después que fuera declarada especie en peligro de extinción.

La sección Investigación en el Campus incluye resúmenes de las investigaciones realizadas por nuestros estudiantes en los últimos años. Estas les han permitido aplicar la teoría aprendida durante su formación académica y enfocarla hacia la búsqueda de respuesta a preguntas específicas y con ello abonar al conocimiento.

Nuestra revista académica *Inter Scientific* integra cinco elementos fundamentales de la actividad científica: Búsqueda (*Inquiry*), Naturaleza (*Nature*), Tecnología (*Technology*), Evolución (*Evolution*) e Investigación (*Research*). Esperamos que este primer volumen, les motive a continuar el recorrido por el interesante camino de la ciencia.

FROM THE EDITOR'S DESK**DR. LIZBETH ROMERO-PÉREZ**

Research has been defined as a systematic way of explaining an observed phenomenon; as a way of increasing the pool of knowledge; as a way of finding the response of a worthwhile question. I agree with all those definitions, but will like to include something else: research is a way of learning and growing. Inter Scientific is the result of the work and effort of many people. For all of them: thanks for making this possible. Inter Scientific is a project through which our faculty and students can share their research, and is with great pleasure that we present it to you.

In the Research Articles section, we present two articles on the Health field: the first one, *The effectiveness of group therapy in patients with chronic renal failure exhibiting depression in the first year of treatment*, establishes the positive effect of group therapy when facing a health problem and the second, *Experiences form the nursing professional and attitudes towards end-stage patients*, examines the relation that exists between the demographical variables of nurses and the attitude they show towards the end-stage patient. As you continue reading, the importance of the genetic study of species is explored on the research article developed by a group of students from our Science and Technology Department: *Evaluation of different methods for the isolation of genomic DNA from Boa constrictor tissue*. The association between parasite *Toxoplasma gondii* and schizophrenia is examined in the review article *Toxoplasma gondii: manipulation of rodents' behavior and the involvement in human schizophrenia*. Dr. Alberto Puente Rolón, presents an article on how the Puerto Rican Boa has survived over the past 40 years after being declared an endangered species.

The Research on Campus section includes summaries of research projects conducted over the past few years by our students. Through scientific inquiry, they have applied the theoretical principals learned throughout their academic formation thus contributing to the growing body of knowledge.

Through *Inter Scientific*, the Arecibo Campus strives to embody the five fundamental elements of scientific investigation: Inquiry, Nature, Technology, Evolution, and Research. We hope that the scope of our journal pleases you as you stroll down the interesting path of science.

La efectividad de la terapia de grupo en el paciente con fallo renal crónico que presenta depresión en el primer año de tratamiento

The effectiveness of group therapy in patients with chronic renal failure exhibiting depression in the first year of treatment

Acevedo-Franqui, V.

Departamento de Enfermería, Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo, Puerto Rico

ABSTRACT

The purpose of the study was to investigate the effectiveness of group therapy in patients with chronic renal failure having depression during the first year of treatment. The methodology consisted of a quasi- experimental comparison pretest- posttest design. Participants were selected by the non-probabilistic method and convenience sampling. Data were analyzed using descriptive statistics. Socio-demographic data were analyzed using percentage analysis in order to establish comparisons between groups and test hypotheses by means of the standard deviation and the mean. For the statistical analysis, the significance level of .05 was used to test the hypotheses. The program SSPS 15 was used to analyze the statistical data. Research results indicated that depression decreased after group therapy, and proved the effectiveness of group therapy for patients with chronic renal failure.

RESUMEN

El propósito del estudio fue identificar la efectividad de la terapia de grupo en los pacientes con fallo renal crónico que presentan depresión en el primer año de tratamiento. El diseño de investigación utilizado fue de tipo cuasi experimental con pre prueba y post prueba de tipo comparativa. Los participantes se seleccionaron por el método no probabilístico a conveniencia. Los datos fueron analizados utilizando la estadística descriptiva. Los datos sociodemográficos fueron sometidos a análisis porcentual, esto con la finalidad de realizar las comparaciones entre los grupos y comprobar las hipótesis, por medio de la desviación estándar y media. En los análisis estadísticos se utilizó el nivel de significancia de .05 para probar las hipótesis. Se utilizó el programa de SSPS 15 para analizar los datos estadísticos recopilados. Los resultados de la investigación demostraron que la depresión disminuyó luego de la terapia de grupo y que la terapia de grupo es efectiva para pacientes con fallo renal crónico.

KEYWORDS Depression, chronic renal failure, group therapy, support group

PALABRAS CLAVE Depresión, fallo renal crónico, terapia de grupo, grupo de apoyo

INTRODUCCIÓN

La depresión es uno de los trastornos mentales de más alta incidencia en todo el mundo. Durante el siglo XX los casos de depresión han aumentado de manera consistente (Culbertson, 1997). El único estudio epidemiológico realizado en Puerto Rico sostiene que los desórdenes afectivos constituyen el cuarto desorden psiquiátrico de mayor prevalencia en la isla entre las edades de 16 a 64 años (Canino et al., 1987). Según ese estudio el 7.9% de la población ha padecido de algún tipo de trastorno del ánimo durante algún periodo de su vida y el 2.9% durante los últimos seis (6) meses. Sin importar el país o cultura, la depresión es de dos a tres veces más frecuente en mujeres que en hombres y la sufren más las personas solas, separadas o divorciadas. Aunque se puede presentar en cualquier edad, en el 50% de los sujetos el trastorno se inicia entre los 20 a 50 años

aproximadamente. La etiología de la depresión es multifactorial debido a que intervienen factores biológicos, genéticos y psicosociales que, en mayor o menor grado, desencadenan la enfermedad o exacerbán sus síntomas (Rodríguez, 2004).

Según Beck (1976), las personas con vulnerabilidad a manifestar depresión poseen características cognoscitivas que son parte de sus rasgos de personalidad. La depresión surge como consecuencia de pensamientos disfuncionales donde subyacen estructuras cognoscitivas (esquemas cognoscitivos) globales que son inherentes a la persona y se mantienen con relativa estabilidad. La persona deprimida se visualiza de forma negativa y se considera inadecuada. Esta persona tiene la autoestima baja, por lo cual se considera indeseable, sin valor, y ve el futuro muy

pesimista. Su esquema cognoscitivo es idiosincrático, estable y tiende a repetirse, dependiendo del estímulo de activación (usualmente una pérdida real o percibida puede ser el factor precipitante), y a tornarse autónomo. Es decir, independientemente del insumo del ambiente, las cogniciones disfuncionales son lo que lleva a la persona con dicho esquema a deprimirse. De acuerdo con el modelo cognitivo de la depresión de Beck (1967, 1976) existen varias estructuras cognitivas específicas que son centradas al desarrollo de la depresión (Beck, 1976): la triada cognitiva. La misma consiste de expectativas negativas, auto apreciación negativa y expectativas negativas respecto al futuro.

El Inventario de Depresión de Beck de 21 reactivos ha sido usado en multitud de estudios para evaluar la respuesta de grupos de pacientes depresivos a los tratamientos contra la depresión o para comparar cual tratamiento es el más eficaz. La confiabilidad y validez del Inventario de Depresión de Beck ha sido documentada ampliamente en contextos norteamericanos y europeos (Beck 1961; Vázquez & Sanz, 1991). En contextos europeos, Vázquez y Sanz (1998) informan una confiabilidad interna, para el Inventario de Depresión de Beck de .93 determinada a través del método de división en mitades. En gran medida, la validez concurrente del Inventario de Depresión de Beck ha sido evaluada por medio de la comparación de la puntuación en este instrumento con la puntuación en medidas de evaluación global de sintomatología psiquiátrica. Beck & Beamesdenfer (1974) informaron que en nueve estudios realizados en Estados Unidos y en Europa las correlaciones entre el Inventario de Depresión de Beck de 21 reactivos y medidas administradas concurrentemente fluctuaron entre .61 y .73. Dobson (1989) realizó un estudio meta – analítico con el objetivo de evaluar la efectividad de la intervención cognoscitiva para la depresión. En el mismo señala que la revisión de los estudios realizados por su meta – análisis se desprende de las intervenciones cognoscitivas. Se utilizó el Inventario de Depresión de Beck para evaluar la sintomatología a partir de la terapia y encontró que las personas en la terapia cognoscitiva mejoraron en un promedio mayor a los que no tuvieron la terapia. (Dobson, 1989).

Depresión. Beck & Rush (1978), definen la depresión como experiencias tempranas que proporcionan la base para formar conceptos negativos (esquemas) que pueden ser latentes y ser activos por determinadas circunstancias, análogas a las experiencias inicialmente responsables de la formación de las actitudes negativas. La depresión puede ser desencadenada por una anomalía o una enfermedad física que activa la creencia latente en una persona. De acuerdo a Beck (1976) la depresión, presenta varias características diferenciales que se pueden identificar: primero, se presenta un conjunto de síntomas y conductas peculiares que la hacen diferente de otras neurosis y segundo, tiende a seguir un desarrollo determinado. La depresión típica suele comenzar con miedo, el cual, puede alcanzar un

punto álgido y luego disminuye generalmente en intensidad, de tal modo que sus características temporales y las “remisiones espontáneas” han sido repetidamente observadas por los clínicos. La tercera causa de la complicación letal de la depresión casi exclusiva de este síndrome, es el suicidio. El diagnóstico de la depresión es particularmente importante como medida preventiva del suicidio. La cuarta causa de la depresión son los determinados tratamientos somáticos (Beck, 1976). La depresión suele ser episódica, con períodos en que se da una ausencia de los síntomas. La naturaleza temporal de la depresión diferencia este síndrome de otros, tales como las fobias, la neurosis obsesiva-compulsiva e incluso la ansiedad crónica, los cuales pueden estar presentes durante toda la vida del individuo sin experimentar cambios sustanciales.

Los errores sistemáticos que se dan en el pensamiento del paciente depresivo mantienen su creencia en la validez de sus conceptos negativos, incluso a pesar de la existencia de evidencia contraria lo que se conoce como errores en el procesamiento de la información (Beck, 1967). Estos son:

1. La inferencia arbitraria (relativo a la respuesta): se refiere al proceso de adelantar una determinada conclusión en ausencia de la evidencia; es contraria a la conclusión.
2. La abstracción selectiva (relativo al estímulo): consiste en centrarse en un detalle extraído fuera de su contexto, ignorando otras características más relevantes de la situación, y conceptualizar toda la experiencia en base a ese fragmento.
3. La generalización excesiva (relativo a la respuesta): se refiere al proceso de elaborar una regla general o una conclusión a partir de uno o varios hechos aislados y de aplicar el concepto tanto a situaciones relacionadas como a situaciones inconexas.
4. La maximización y minimización (relativo a la respuesta): se reflejan en los errores cometidos al evaluar la significación o magnitud de un evento; errores de tal calibre que constituyen una distorsión.
5. La personalización (relativo a la respuesta): se refiere a la tendencia y facilidad del paciente para atribuirse a sí mismo fenómenos externos cuando no existe una base firme para hacer tal conexión.
6. El pensamiento absolutista, dicotómico (relativo a la respuesta): se manifiesta en la tendencia a clasificar todas las experiencias según una o dos categorías opuestas; por ejemplo, impecable o sucio, santo o pecador. Para describirse a sí mismo, el paciente selecciona las categorías del extremo negativo.

Beck (1976), indica que una manera de abordar el desorden de pensamiento presente en la depresión es conceptualizarlo en términos de modos “primitivos” de organizar la realidad vs.

modos'' maduros '''. Parece claro que las personas depresivas tienden a estructurar sus experiencias de un modo bastante primitivo. Tienden a emitir juicios globales respecto a los acontecimientos que afectan su vida. Sus contenidos de pensamiento tienen una gran probabilidad de extremos, negativos, categóricos, absolutistas, etc. La respuesta emocional por lo tanto, tiende a ser negativa y extrema. En contraposición a este tipo de pensamiento primitivo, un pensamiento más maduro integra automáticamente las situaciones en varias dimensiones. El pensamiento primitivo se clasifica de la siguiente manera: no dimensional y global (soy miedoso); absolutista y moralista (soy un despreciable cobarde); invariable (siempre fui y siempre seré un cobarde); diagnóstico basado en el carácter (hay algo extraño en mi carácter); la irreversibilidad (como soy intrínsecamente débil, no hay nada que se pueda hacer con mi problema). El pensamiento maduro se clasifica en: multidimensional (soy medianamente miedoso, bastante generoso y ciertamente inteligente); relativo que no emite juicio de valor (soy más cobarde que la mayoría de las personas que conozco); variable (mis miedos varían de un momento a otro y de una situación a otra); diagnóstico conductual (evito en gran medida algunas situaciones y tengo diversos miedos); reversibilidad (puedo aprender modos de afrontar situaciones y de luchar contra mis miedos).

Según esta representación esquemática, se observa que el paciente depresivo tiende a interpretar sus experiencias en términos de privaciones o de derrotas (no dimensionales) y como algo irreversible (fijo). Consecuentemente, se considera a sí mismo como un "perdedor" (categórico, emite juicios de valor) y como una persona predestinada (déficits de carácter irreversibles). A lo largo de la historia se puede constatar que la depresión ha existido por muchos siglos. Esto a través de los escritos y las obras de arte que presentan las manifestaciones excesivas del odio, de los celos, del miedo, del amor y de ese placer interno conocido como melancolía, pena y tristeza. Habitualmente se administra el Inventario de Depresión de Beck antes y después del tratamiento. Una reducción estadísticamente significativa en la puntuación media de inventario de depresión de Beck se considera entre otros parámetros, una respuesta positiva al tratamiento. Sin embargo, es obvio que el objetivo de toda la intervención terapéutica no es solamente alcanzar una mejoría estadísticamente significativa de la problemática medida de un grupo de pacientes, sino fundamentalmente alcanzar una mejoría clínicamente significativa, es decir, un incremento de la magnitud clínicamente relevante y con efectos prácticos en la vida de dichos pacientes (Vázquez y Sanz, 1998).

Teoría de Adaptación de Sister Callista Roy. El Modelo de Adaptación de Sister Callista Roy fue elaborado en 1964 a partir del trabajo de Harry Helson en psicofísica. Roy considera a la persona como un sistema adaptativo. Según Roy (1999), el humanismo en la enfermería es la creencia en el propio poder creativo de la persona, la creencia en que las habilidades de

afrontamiento de la persona incrementan el bienestar. El planteamiento holístico de la enfermería que hace Roy se basa en el humanismo. La utilización del modelo de adaptación de Roy en la profesión de enfermería facilitó la clarificación y la depuración del mismo y según el mismo Roy (1999), las investigaciones en relación al modelo están intensificándose. Tiedeman, (1983) valora los supuestos de solidez de Roy, clasificándolos en tres niveles, según se basen en: investigaciones previas, teorías aceptadas, especialmente teorías con datos empíricos como apoyo y la experiencia personal. El primer nivel constituye la base más sólida, y el tercero, la más débil.

Descripción de la Teoría

1. Se enfoca en el sistema adaptativo en un ambiente de cambios constantes. El ambiente cambiante estimula a la persona a realizar respuestas adaptativas.
2. Dos mecanismos se utilizan para la adaptación:
 - a. sistema regulador
 - b. subsistemas de cognición ("cognator").
3. La adaptación es un proceso en el que los individuos y las personas utilizan conscientemente la selección para crear integración humana y ambiental.
4. Los sistemas humanos interactúan con el ambiente cambiante y realizan respuestas adaptativas. Para el ser humano la vida nunca es la misma.
5. Roy y Andrews (1999) han identificado categorías de estímulos comunes, seguido de ejemplos que afectan la adaptación. La clasificación de cualquiera de estos estímulos es en focales, contextuales o residuales, dependiendo su influencia en la adaptación en una situación particular.
6. Se centra en el concepto de adaptación de la persona. Las personas buscan continuamente estímulos en su entorno. Como último paso, se efectúa la reacción y se da paso a la adaptación. Esta puede ser eficaz o no.

Asunciones Científicas

1. Los sistemas de materia y energía evolucionan hacia niveles más altos de complejidad en la organización del ser.
2. La conciencia de la existencia de uno mismo y del entorno se basan en el hecho de pensar y de sentir.
3. Los seres humanos son responsables de la integración de los procesos creadores.
4. El hecho de pensar y sentir, media en la acción humana.
5. El sistema de las relaciones incluye la aceptación, protección y el fomento de la interdependencia.
6. Las personas y su ambiente siguen modelos comunes y tienen relaciones integrales.
7. Las transformaciones de la persona y su entorno se crean en la conciencia humana.
8. La integración de los significados de la existencia humana y del entorno es el resultado de la adaptación.

Asunciones Filosóficas

1. Las personas se relacionan a la vez con el mundo y con Dios.
2. El significado de la existencia humana se basa en un punto de convergencia de omega del universo.
3. En los últimos tiempos, se ha descubierto a Dios en la diversidad de la creación y Éste constituye el destino común de la creación.
4. Las personas usan la capacidad humana creadora de conciencia, tolerancia y fe.
5. Las personas son responsables de los procesos del origen, preservación y transformación del universo.

Terapia de grupo. La terapia de grupo en su etapa temprana fue practicada en Europa entre los 1900 a los 1930 con el nombre de consejería grupal. Psicoterapeutas austriacos y alemanes la usaron para tratar a los pacientes que presentaban una amplia gama de problemas emocionales. También fue utilizada por psiquiatras daneses y rusos (Rosenbaum & Patterson, 1995). Según la Asociación Norteamericana de Psicoterapia, la terapia de grupo, es una forma especial de terapia en la cual un grupo pequeño guiado por un psicoterapeuta profesional se reúne, para ayudarse individual y mutuamente. Esta terapia ayuda a las personas a conocerse a sí mismas, y también a mejorar sus relaciones interpersonales. La *American Psychological Association* afirma que la psicoterapia o el consejo (*counseling*) para la adaptación es uno de sus principales intereses y que los programas de formación en psicoterapia son muy efectivos y han ido creciendo en número, amplitud e intensidad.

Hipótesis. Las hipótesis plateadas en esta investigación se establecieron para determinar cuán efectiva es la terapia de grupo en pacientes con fallo renal crónico que presentan depresión y el nivel de depresión. El nivel de confianza será de .05 para comprobar o descartar las hipótesis que se han diseñado en esta propuesta. A continuación se presentan las hipótesis diseñadas para esta investigación:

Hi 1 Existen diferencias significativas en la disminución en el nivel de depresión en los pacientes con fallo renal crónico luego de la terapia de grupo.

Ho No existen diferencias significativas en la disminución en el nivel de depresión en los pacientes con fallo renal crónico luego de la terapia de grupo (Alfa .05).

Hi 2 Existen diferencias significativas en la efectividad de la terapia de grupo en pacientes con fallo renal crónico y con depresión (Alfa .05).

Ho No existen diferencias significativas en la efectividad de la terapia de grupo para pacientes fallo renal crónico con depresión (Alfa .05).

El objetivo de la investigación fue identificar el nivel de depresión (mínima, leve, moderada y severa) de los pacientes con fallo renal crónico en el primer año de tratamiento y

comparar la efectividad de la terapia de grupo para esta población antes del tratamiento y después del tratamiento utilizando el Inventario de Depresión Beck.

MATERIALES Y MÉTODOS

Participantes. Para esta investigación se utilizó una muestra a conveniencia por disponibilidad de 8 personas procedentes de una población heterogénea en cuanto a edad, estado civil, profesión y nivel de estudio. Los participantes presentaban en común las siguientes características: fallo renal crónico, recibían hemodiálisis en el primer año de tratamiento y presentaban depresión. Se consideraron como criterios de exclusión la presencia de trastornos mentales como ansiedad, esquizofrenia y personalidad bipolar, que no estuvieran en el tratamiento de hemodiálisis, terapia con medicamentos y dieta.

Procedimiento para la selección de participantes. Los participantes de la muestra de estudio fueron seleccionados de una unidad de hemodiálisis del centro de la isla de Puerto Rico. Se estableció un documento para la selección de los participantes mediante entrevista de cernimiento en la que se determinó si cumplían con los criterios de inclusión y exclusión. La muestra fue seleccionada por un método no probabilístico por disponibilidad tomando en consideración que cumplían un año de tratamiento, presentaban fallo renal crónico y depresión. Para la recolección de la muestra, la investigadora sometió un anuncio invitando a participar libre y voluntariamente a los participantes.

El ambiente para llevar a cabo la intervención psicoterapéutica con los participantes contó con un espacio físico adecuado. En el lugar había ventilación, privacidad, iluminación adecuada y sillas. El estudio se llevó a cabo en colaboración con la agencia que ofrece el tratamiento de hemodiálisis y una Psicóloga Clínica. Se solicitó autorización mediante una carta circular en la que se indicó el procedimiento a llevar a cabo. La solicitud para la selección de los participantes se radicó con 6 semanas de anticipación a la fecha en que se inició la investigación.

Procedimiento para garantizar el consentimiento informado de los sujetos. La muestra estudiada estuvo compuesta por 8 pacientes del centro renal entre las edades de 35 – 70 años de ambos sexos. Se diseñó una hoja de consentimiento informado donde se explicó en forma detallada la descripción del estudio. La confidencialidad y privacidad fueron garantizadas.

Instrumento. El instrumento que se utilizó fue el Inventario de Depresión de Aaron Beck Segunda Edición Manual (Beck, Steer, & Brown, 2006) traducido al español por *Psychological Corporation*. En los últimos 35 años, el Inventario de Depresión de Beck se ha convertido en uno de los instrumentos más utilizados para evaluar la existencia o severidad de síntomas de depresión, dada su probada validez y confiabilidad tanto en

poblaciones clínicas como no clínicas. El Inventory de Depresión de Beck es un instrumento de 21 ítems en los que se evalúa la intensidad de la depresión. En cada uno de los ítems el participante debe elegir aquella frase que más se aproxime o asemeje a su estado la última semana incluyendo el día en que completa el inventario. Las alternativas se organizan en conjuntos de cuatro y se ordenan en base a la gravedad.

En cuanto a la corrección del instrumento cada ítem se valora de 0 – 3 puntos en función de la alternativa escogida y tras sumar directamente la puntuación de cada ítem, se puede obtener una puntuación total que varía de 0 a 63. El propósito del Instrumento de Depresión de Beck es la evaluación de la medida de la depresión. Cada premisa se relaciona con un signo clave y particular del problema. La guía para la interpretación del instrumento es la siguiente: (a) 0 - 13 = representa un estado depresivo mínimo, (b) 14 -19 = justifica depresión leve, (c) 20 – 28 = comprende depresión moderada, y (d) 29 – 63 = presenta depresión severa (Beck & Steer, 1987). A veces se presenta la discrepancia de que el sujeto elige más de una alternativa en un ítem dado. En este caso se elige la puntuación de mayor gravedad.

Procedimiento para la recolección de datos. Los participantes de esta investigación se reunieron en 12 sesiones que comprendían dos horas semanales. Se ofrecieron unas terapias de grupo dirigidas por la Psicóloga Clínica. Las instrucciones para llenar el consentimiento informado fueron las siguientes: se entregó la hoja de consentimiento informado a los participantes, se procedió a leerla individualmente en voz alta y se explicó detalladamente. Se le solicitó a las personas que firmaran la autorización si estaban de acuerdo en participar en la investigación. Se procedió a entregar el instrumento, luego de haber obtenido el consentimiento informado y se explicó su administración. Se ofrecieron las terapias de grupo y una vez terminado todo el tratamiento, se administró nuevamente el instrumento.

Diseño. Esta investigación utilizó un diseño cuasi experimental para la evaluación del nivel de depresión y de la efectividad de la terapia de grupo en pacientes con fallo renal crónico. Se administró el Inventory de Depresión de Beck pre prueba y post prueba con el propósito de medir y analizar cuán efectivas fueron las psicoterapias grupales.

Análisis de datos. Los datos recopilados de la investigación fueron analizados por medio de la estadística descriptiva. Para el análisis de los datos sociodemográficos se utilizó el análisis porcentual. Con la finalidad de realizar las comparaciones entre los grupos o comprobar o descartar hipótesis se utilizó la media y desviación estándar. El nivel de significancia establecido para probar las hipótesis fue de .05. Se utilizó el programa SPSS 15 para analizar los datos estadísticos.

RESULTADOS

El propósito de la investigación fue identificar si existen diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de depresión de los sujetos con fallo renal crónico antes y después de la terapia de grupo.

Tabla 1. Perfil de los Datos Sociodemográficos.

Variable	Categoría	Frecuencia n	% n	% antes		% después
				antes	después	
Genero	Femenino	2	25.0	25.0	25.0	
	Masculino	6	75.0	75.0	75.0	
	Total	8	100.0	100.0	100.0	
Edad	40-50	2	25.0	25.0	25.0	
	51-60	2	25.0	25.0	25.0	
	61-70	4	50.0	50.0	50.0	
	Total	8	100.0	100.0	100.0	
Primer año de tratamiento con FRC	Tratamiento FRC	8	100.0	100.0	100.0	

FRC = Fallo Renal Crónico

De la muestra de sujetos con fallo renal crónico, el 25.0% (n = 2) fue femenino, el 75.0% (n = 6) masculino. El 25.0% (n = 2) se encontraba entre las edades de 40 – 50 años, el 25.0% (n = 2) se encontraba entre las edades de 51 – 60 años, y el 50.0% (n = 4) se encontraba entre las edades de 61 – 70 años. El 100% (n = 8) de los participantes se encontraba en el primer año de tratamiento con fallo renal crónico (tabla 1). En la tabla 2 se presentan los resultados del cuestionario antes y después de la terapia.

Según (Beck, 2006) las puntuaciones otorgadas al Inventory de Depresión de Beck, están basadas en las consideraciones clínicas por las que el instrumento se administra. Las puntuaciones totales para distinguir las características de la muestra fueron de (a) 0 - 13 = representa un estado depresivo mínimo, (b) 14 -19 = justifica depresión leve, (c) 20 – 28 = comprende depresión moderada, y (d) 29 – 63 = presenta depresión severa. El 87.5% de los sujetos presentaron cambios en la conducta. Se observó en un 12.5% de los participantes, (1) no hubo cambios de conducta (tabla 3).

En la tabla 4 se presentan las medidas y la desviación estándar de las opciones de las respuestas 1,2 o 3 para cada ítems. Las correlaciones más significativas fueron (Sentimiento de Culpa, M = 1.00 antes, M = 0.25 después, DE = 1.06 antes, DE = 0.46 después); (Autocrítica, M = 1.00 antes, M = 0.62 después, DE = 1.19 antes, DE = 0.91 después); (Pensamiento o Deseo Suicida, M = 0.25 antes, M = 0.00 después, DE = 0.46 antes, DE = 0.00 después); (Llanto, M = 1.12 antes, M = 0.25 después, DE = 1.35

Tabla 2. Resultados del cuestionario antes y después de la terapia.

Variable	n antes	% antes	n después	% después	
Tristeza					
No me siento triste	6	75.0	7	87.5	difícil quedarme quieto Estoy tan inquieto o agitado que tengo que estar siempre en movimiento o haciendo algo
Me siento triste gran parte del tiempo	2	25.0	1	12.5	
Estoy triste todo el tiempo	0	00.0	0	00.0	
Estoy tan triste o soy tan infeliz que no puedo soportarlo	0	00.0	0	00.0	
Pesimismo					
No estoy desalentado respecto de mi futuro	4	50.0	7	87.5	Indecisión Tomo mis decisiones tan bien como siempre
Me siento más desalentado respecto de mi futuro que lo que solía estarlo	1	12.5	1	12.5	Me resulta más difícil que de costumbre tomar decisiones
No espero que las cosas funcionen para mí	3	37.5	0	00.0	Encuentro mucha más dificultad que antes para tomar decisiones
Siento que no hay esperanza para mi futuro y que sólo puede empeorar	0	00.0	0	00.0	Tengo problemas para tomar cualquier decisión
Fracaso					
No me siento como un fracasado	6	75.0	7	87.5	Pérdida de Energía Tengo tanta energía como siempre
He fracasado más de lo que hubiera debido	1	12.5	1	12.5	Tengo menos energía que la que solía tener
Cuando miro hacia atrás veo muchos fracasos	0	00.0	0	00.0	No tengo suficiente energía para hacer demasiado
Siento que como persona soy un fracaso total	1	12.5	0	00.0	No tengo energía suficiente para hacer nada
Pérdida de Placer					
Obtengo tanto placer como siempre por las cosas de las que disfruto	1	12.5	5	62.5	Irritabilidad No estoy más irritable que lo habitual
No disfruto tanto de las cosas como solía hacerlo	6	75.0	2	25.0	Estoy más irritable que lo habitual
Obtengo muy poco placer de las cosas de las que solía disfrutar	1	12.5	1	12.5	Estoy mucho más irritable que lo habitual
No puedo obtener ningún placer de las cosas que solía disfrutar	0	00.0	00.0	00.0	Estoy irritable todo el tiempo
Sentimiento de Castigo					
No siento que estoy siendo castigado	6	75.0	6	75.0	Cambio en el Apetito No he experimentado ningún cambio en mi apetito
Siento que tal vez pueda ser castigado	2	25.0	1	12.5	Mi apetito es poco menor que lo habitual
Espero ser castigado	0	00.0	0	00.0	Mi apetito es poco mayor que lo habitual
Siento que estoy siendo castigado	0	00.0	1	12.5	Mi apetito es mucho menor que antes
Autocritica					
No me critico ni me culpo más de lo habitual	4	50.0	5	62.5	Mi apetito es mucho mayor que lo habitual
Estoy más crítico conmigo mismo de lo que solía estarlo	1	12.5	1	12.5	No tengo apetito en absoluto
Me critico a mí mismo por todos mis errores	2	25.0	2	25.0	Quiero comer todo el tiempo
Me culpo a mí mismo por todo lo malo que me sucede	1	12.5	0	00.0	
Pensamiento o Deseo Suicidas					
No tengo ningún pensamiento de matarme	6	75.0	8	100.0	Dificultad de Concentración Puedo concentrarme tan bien como siempre
He tenido pensamiento de matarme, pero no lo haría	2	25.0	0	00.0	No puedo concentrarme tan bien como habitualmente
Querría matarme	0	00.0	0	00.0	Me es difícil mantener la mente en algo por mucho tiempo
Me mataría si tuviera la oportunidad de hacerlo	0	00.0	0	00.0	Encuentro que no puedo concentrarme en nada
Llanto					
No lloro más de lo que solía hacerlo	4	50.0	7	87.5	Cansancio o Fatiga No estoy más cansado o fatigado que lo habitual
Lloro más de lo que solía hacerlo	1	12.5	0	00.0	Me fatigo o me canso más fácilmente que lo habitual
Lloro por cualquier pequeñez	1	12.5	1	12.5	Estoy demasiado fatigado o cansado para hacer muchas cosas que solía hacer
Siento ganas de llorar pero no puedo	2	25.0	0	00.0	Estoy demasiado fatigado o cansado para hacer la mayoría de las cosas que solía hacer
Agitación					
No estoy más inquieto o tenso que lo habitual	5	62.5	7	87.5	Pérdida de Interés en el Sexo No he notado ningún cambio reciente en mi interés por el sexo
Me siento más inquieto o tenso que lo habitual	1	12.5	1	12.5	Estoy menos interesado en el sexo de lo que solía estarlo
Estoy tan inquieto o agitado que me es	0	00.0	0	00.0	Ahora estoy mucho menos interesado en el sexo
					He perdido completamente el interés en el sexo

antes, DE = 0.70 después); (Sueño, M = 3.75 antes, M = 1.12 después, DE = 2.54 antes, DE = 2.03 después).

Resultado de las hipótesis. Se establecieron dos hipótesis de trabajo: Existen diferencias estadísticamente significativas en la disminución en el nivel de depresión luego de la terapia de grupo y existen diferencias estadísticamente significativas en la efectividad de la terapia de grupo para pacientes con depresión. Hipótesis 1. Existen diferencias estadísticamente significativas, en el nivel de depresión; o sea si esta disminuye luego de la terapia de grupo. Las correlaciones de los ítems corregidas fueron significativas a un nivel de significancia mayor de .05. Se aceptó la hipótesis alterna y se concluyó el nivel de depresión disminuyó luego de la terapia grupal.

Hipótesis 2. Existen diferencias estadísticamente significativas, si la terapia de grupo es efectiva para pacientes con depresión. Se aceptó la hipótesis alterna y se concluyó la terapia de grupo es efectiva para sujetos con depresión.

Tabla 3 Tabla para identificar el nivel de depresión antes y después de la terapia.

Variable	Puntaje antes terapia	Rango antes terapia	Puntaje después terapia	Rango después terapia
Sujeto 1	21	Moderado	2	Mínimo
Sujeto 2	20	Moderado	13	Mínimo
Sujeto 3	39	Severo	31	Severo
Sujeto 4	21	Moderado	6	Mínimo
Sujeto 5	13	Mínimo	6	Mínimo
Sujeto 6	15	Leve	8	Mínimo
Sujeto 7	4	Mínimo	2	Mínimo
Sujeto 8	8	Mínimo	4	Mínimo

DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como propósito identificar si la terapia grupal es efectiva con sujetos que mantienen fallo renal crónico que presentan indicadores del estado anímico depresivo y si existen diferencias en el nivel de depresión. Con el fin de identificar los indicadores de la depresión se administró el inventario de depresión de Beck, antes y después de la terapia de grupo.

Análisis de los datos sociodemográficos. Al establecer la muestra 75% de los participantes del estudio eran hombres y el 25% mujeres. Este dato puede considerarse como un apoyo a trabajos previos como el de Robinson (2002) que señala mayor incidencia de fallo renal en los hombres.

Análisis de las hipótesis. Hipótesis 1. Existen diferencias estadísticamente significativas, en el nivel de depresión o sea, si los síntomas depresivos disminuyen luego de la terapia de grupo. Luego del análisis estadístico se observaron cambios. Las correlaciones más significativas fueron (Sentimiento de Culpa, M = 1.00 antes, M = 0.25 después, DE = 1.06 antes, DE = 0.46 después); (Autocrítica, M = 1.00 antes, M = 0.62 después, DE =

1.19 antes, DE = 0.91 después); (Pensamiento o Deseo Suicida, M = 0.25 antes, M = 0.00 después, DE = 0.46 antes, DE = 0.00 después); (Llanto, M = 1.12 antes, M = 0.25 después, DE = 1.35 antes, DE = 0.70 después); (Sueño, M = 3.75 antes, M = 1.12 después, DE = 2.54 antes, DE = 2.03 después). La correlación de los ítems corregidos fue significativa (el nivel de significancia menor de .05). Esto implica que los síntomas de depresión disminuyeron con la terapia grupal. Se acepta la hipótesis alterna. Según Roy (1999) auto-concepto se refiere a las creencias y los sentimientos acerca de uno mismo.

Tabla 4 Medias y desviación estándar para cada síntoma del cuestionario.

Síntoma	N	M Antes	M Después	DE Antes	DE Después
Tristeza	8	0.25	0.12	0.46	0.35
Pesimismo	8	0.87	0.12	0.99	0.35
Fracaso	8	0.50	0.12	1.06	0.35
Pérdida de Placer	8	1.00	0.50	0.53	0.75
Sentimiento de Culpa	8	1.00	0.25	1.06	0.46
Sentimiento de castigo	8	0.25	0.50	0.46	1.06
Disconformidad con uno Mismo	8	0.62	0.25	0.91	0.70
Autocrítica	8	1.00	0.62	1.19	0.91
Pensamiento o deseos Suicidas	8	0.25	0.00	0.46	0.00
Llanto	8	1.12	0.25	1.35	0.70
Agitación	8	0.87	0.12	1.35	0.35
Pérdida de Interés	8	0.87	0.25	1.35	0.46
Indecisión	8	0.75	0.50	0.88	0.92
Desvalorización	8	0.87	0.25	1.12	0.46
Pérdida de Energía	8	1.00	0.87	0.53	0.35
Cambios Hábitos de sueño	8	3.75	1.12	2.54	2.03
Irritabilidad	8	0.37	0.37	0.74	0.74
Cambio en el apetito	8	1.87	1.75	1.35	1.98
Dificultad de concentración	8	0.87	0.25	0.83	0.70
Cansancio o fatiga	8	0.87	0.75	0.64	0.70
Pérdida de interés en el sexo	8	1.00	1.00	0.92	0.92

M = media, DE = desviación estándar, N = sujetos nivel de significancia .05

Abarca la identidad física (incluye la sensación y la imagen corporal), identidad personal (incluye la auto coherencia y la auto ideal) y la identidad moral y ética (incluye la auto observación y la auto evaluación). Los resultados demuestran que los pacientes con fallo renal crónico que padecen de algún nivel de depresión son capaces de acudir a terapias grupales y

adaptarse al tratamiento de diálisis. Según Roy (1999), adaptación se refiere al “proceso y al resultado por lo que las personas, que tienen la capacidad de pensar y de sentir, como individuos o como miembros de un grupo, son conscientes y escogen la integración del ser humano con su entorno”. La finalidad es reaccionar ante los estímulos que envía el entorno para así mantener su integridad.

Hipótesis 2. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos del estudio, o sea, si la terapia de grupo es efectiva para pacientes con depresión. Se aceptó la hipótesis alterna y se concluye que la terapia de grupo es efectiva para sujetos con depresión. El 87.5% de los sujetos presentaron cambios en la conducta, mientras que un 12.5% no presentó cambios. Debido a que no se conoce si la depresión era clínica, se refirió el paciente a tratamiento individual con un psiquiatra.

Limitaciones. En Puerto Rico existen pocos estudios relacionados con esta condición. Este estudio exploratorio puede contribuir al campo de la enfermería, al campo de la salud en general y servir de motivación para otros investigadores.

CONCLUSIÓN

La investigación llevada a cabo permite ofrecer las siguientes recomendaciones: (a) Ofrecimiento de servicios de psicología a los pacientes con fallo renal crónico, (b) Formación de grupos de apoyo dirigidos por el personal de trabajo social que integren a la familia al proceso de diálisis e (c) inclusión de terapia de grupo para orientar a los pacientes y la familia. En el área de la investigación se recomienda la replicación del estudio y que se incluya al familiar primario del paciente con fallo renal crónico al igual que una mayor cantidad de terapias grupales.

Este estudio tiene implicaciones en la práctica de los profesionales de la salud y del personal envuelto en ofrecer los tratamientos para el paciente con fallo renal. Esta investigación aumenta el conocimiento de los profesionales de la enfermería y los alerta a estar conscientes de los posibles cambios en el estado de ánimo de los pacientes. Por esto es necesario aumentar la recopilación de información de cernimiento para prevenir, detectar y referir de ser necesario al paciente a intervenciones psicoterapéuticas. Por consiguiente, es necesario orientar a los pacientes sobre la solicitud de servicios de salud mental, de ser requeridos.

Los profesionales de enfermería deben propiciar el desarrollo de investigaciones relacionadas al concepto de la depresión y terapia de grupo para aumentar el campo de conocimiento en esta área. Esta investigación se constituyó para concienciar sobre el desarrollo de la prevención primaria en los pacientes con fallo renal crónico con un diagnóstico depresivo y ofrecer servicios que pueden ser de gran ayuda para dicha población. Al trabajar con estos sujetos se observan una gama de conducta, las cuales

los ponen en riesgo, para sobrellevar la condición con valentía lo que disminuye la calidad de vida. Entre los cambios profundos que experimentan estos sujetos se encuentran: cambios físicos, social, psicológico, espiritual, falta de la integración familiar, pobre motivación y el pobre manejo de conflictos.

REFERENCIAS

- Beck, A.T. (1963). Thinking and depression: Idiosyncratic content and cognitive distortion. *Archives of General Psychiatry*, 9, 324 – 333.
- Beck, A.T. (1967). *Depression: clinical, experimental, and theoretical aspects*. New York: Harper y Row.
- Beck, A.T. & Beamesderfer, A. (1974). Assessment of depression: The Depression Inventory. In *Psychological measurements in psychopharmacology* (pp.151 – 169). Basel: S. Karger.
- Beck, A.T., Weissman, A., Lester, D., & Trexler, L. (1974). The measurements of pessimism: the hopelessness scale. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 42, 861 – 865.
- Beck, A.T. (1976). *Cognitive therapy and the emotional disorders*. New York: International University Press.
- Beck, A.T., & Rush, A. J. (1978). *Cognitive approaches to depression and suicide*. En *Cognitive defect in the development of mental illness*. New York: Brunner – Mazel.
- Beck, A.T., Steer, R. A. & Brown, G. K. (2006). *Inventario de Depresión de Beck Segunda Edición Manual*. Editorial Padiós.
- Bernal, G., Bonilla, J., & Santiago, I. J. (1995). Confidabilidad y validez de construcción lógica de dos instrumentos para medir sintomatología psicológica en una muestra clínica: El Instrumento de Depresión de Beck y la Revista de Cotejo de Síntomas – 36. *Revista Latinoamericana de Psicología*. 27, 207 – 229.
- Canino, G. J., Brid, H. R., Shrout, P. E., Rubio-Stipek, M., Bravo, M.; Martínez R., Sesma, M., & Guevara, L. M. (1987). The prevalence of specific psychiatry disorders in Puerto Rico. *Archives of General Psychiatry*, 44, 727 – 735.
- Culberson, F.M. (1997). Depression and gender: an international review. *American Psychologist*. 25(3).
- Dobson, K. S. (1989). A meta – analysis of the efficacy of cognitive therapy for depression. *Journal of Consulting Clinical Psychology*, 57, 414 – 419.
- Fuchs, C., & Rehm, L.A. (1977). A self- control behavior

- therapy program for depression. *Journal of Consulting Clinical Psychology*, 45, 206–215.
- Give, V. J. (1975). Cognitive modification and positive group experience as a treatment for depression. (Doctoral Thesis, Temple University). Dissertation Abstracts International. (Microfilm de la Universidad).
- Hodgson, J. W., & Urban, H. B. (1975). A comparison of interpersonal training programs in the treatment of depressive states. Unpublished manuscript, Pennsylvania State University.
- Louro Bernal, I. (1998). Evaluación de un modelo de vulnerabilidad psicológica a la depresión. (Tesis de Maestría en Psicología de la Salud) Instituto de Ciencias Médicas de la Habana, Cuba.
- Lugo Carro, I., Louro Bernal, I. & Bayarre, H. (1998). La depresión en Cuba: Validación del inventario de Depresión de Beck y de la Escala de Actitudes Disfuncionales en la población Cubana. *Avances en Psicología Clínica Latinoamericana*, 16, 111 - 120.
- Marriner – Tomey, A. & Raile – Alligood, M. (2003). *Modelos y teorías de enfermería*. (5ta Ed.). Madrid: Elsevier Science.
- Martínez Taboas, A. (1989). A meta – analysis of the efficacy of cognitive therapy for depression. *Journal of Consulting Clinical Psychology*, 57, 414 – 419.
- Morris, N. E. (1975). A group self- instruction method for the treatment of depressed out patients. (Doctoral Thesis, University of Toronto). National Library of Canada, Canadian Theses Division n. 352772.
- Netzu, A. M., & Perri, M. G. (1989). Social problems loving therapy for unipolar depression: An initial dismantling investigation. *Journal of Consulting Psychology*, 57, 408 – 413.
- Rehm, L. P., Fuchs, C. Z., Roth, D. M., Koynblithe, S. J., & Romano, J. M. (1978). A comparison of self – control, and social skills treatments of depression (Unpublished manuscript). Cornell University.
- Robinson, D. J., Kidd, P., & Rogers, M. K. (2000). *Primary care across the lifespan*. (5ta ed). Harcourt Health Sciences Company. Mosby.
- Rodríguez, G. P. (2004). Evaluación de la efectividad de un modelo de terapia de grupo de corte interpersonal con personas hospitalizadas en un hospital psiquiátrico (Tesis Doctoral) Universidad de Puerto Rico Recinto de Río Piedras, Colección Puertorriqueña.
- Rogers, C. R. (1981). *Psicoterapia centrada en el cliente*.
- Práctica, implicaciones y teoría. Ediciones Padiós. Barcelona.
- Rosenbaum, M., & Patterson, K. M. (1995). Group Psychotherapy in Historical Perspective. In B. Bongor y LE. Butler (Eds), *Comprehensive Book of Psychotherapy* (pp. 159–172) Oxford: Oxford University Press.
- Roy, C., & Andrews, H. A. (1999). The Roy adaptation model. (2nd ed). Stamford, CT.; Appleton Y Lange.
- Rush, A. J., Beck, A. T., Kovacs, M., & Hollon, S. (1977). Comparative efficacy of cognitive therapy and imipramine in the treatment of depressed outpatient. *Cognitive Therapy and Research*, 1, 17 – 37.
- Schmickley, V. G. (1976). The effects of cognitive – behavior modification upon depressed out patients (Thesis Doctoral). Michigan State University.
- Shaw, B. F. (1975). A systematic investigation of three treatments of depression (Thesis Doctoral). University of Western Ontario, Canada.
- Shaw, B. F. (1977). Comparison of cognitive therapy and behavior therapy in the treatment of depression. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 45, 543 – 551.
- Shipley, C. R., & Fazio, A. F. (1973). Pilot study of treatment for psychological depression. *Journal of Abnormal Psychology*, 82, 372 – 376.
- Smeltzer, S. C. & Bare, B. G. (2002). *Enfermería Médico quirúrgica* (9na ed.). Mc-Graw – Hill Interamericana editores, SA. De C.V.
- Soriano, C. S. (2004). Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de enfermedad renal crónica. *Nefrología*; 24 N (6).
- Taylor, F. G. (1974). Cognitive and behavioral approaches to the modification of depression (Thesis Doctoral). Queen's University, Kingston, Ont.
- Taylor, F. G., & Marshal, W. (1977). Experimental analysis of a cognitive –behavioral therapy for depression. *Cognitive Therapy and Research*, 1, 59 – 72.
- Tiedeman, M. E. (1983). The Roy Adaptation Model. In J. Fitzpatrick & A. Whall, *Conceptual models of nursing: Analysis and application*. Bowie, Md.: Robert J. Brady, 157 – 180.
- Vázquez, C. y Sanz, J. (1991). Fiabilidad y Validez Factorial de la versión española del inventario de Depresión de Beck.

Comunicación presentada al III congreso de evaluación psicología, Barcelona.

Vázquez, C. y Sanz, J. (1998). Fiabilidad y Validez de los Datos Normativos del Inventario para la Depresión de Beck. *Psicothema*, 10(2), 303 –318.

AUTORA/AUTHOR

Vivian Acevedo Franqui. Es Instructora a jornada parcial en el Departamento de Enfermería del Recinto de Arecibo de la Universidad Interamericana de Puerto Rico. Posee un grado de M.S.N. en Ciencias de Enfermería con especialidad en cuidado primario. Puede ser contactada a través del correo electrónico: vacevedo@arecibo.inter.edu

Part-time Instructor in the Nursing Department of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Holds an M.S.N. in Nursing Sciences with a specialization in primary care. May be contacted via email: vacevedo@arecibo.inter.edu

Las experiencias del profesional de enfermería y las actitudes hacia el paciente en etapa terminal

Nurse experiences and attitudes towards end-stage patients

Hernández Corraliza, L.

Departamento de Enfermería, Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo, Puerto Rico

ABSTRACT

This descriptive correlational study examined the association between demographic variables and attitudes towards patients during the final stage of life period. Nursing experiences that influenced attitudes towards end-stage patients were identified. The hypothesis tested proved that nurses with the most practical experience coping with end-stage patients would have more positive attitudes towards patients. The theoretical framework used was based on Patricia Benner's From Novice to Expert. A convenience sample consisted of N = 30 nurses working in Home Care and Hospice Agencies in towns on the center of Puerto Rico. A demographic information instrument consisting of 12 items was used to collect data on personal, past, and professional experiences. The second instrument used was the Frommelt Attitudes Toward Care of the Dying scale (FATCOD). Descriptive statistics of central tendency and dispersion were used for the assessment of demographic information.

RESUMEN

El estudio descriptivo correlacional tiene como propósito principal examinar la relación que existe entre las variables demográficas y la actitud hacia los pacientes en etapa terminal o moribundo. Se identificaron cuáles de las experiencias en enfermería influían en la actitud hacia el paciente en etapa terminal. La hipótesis que se probó fue: mientras más experiencia tenga el profesional de enfermería con pacientes en etapa terminal más positiva será la actitud hacia éstos. La teoría que se utilizó como marco teórico es De Novato a Experto de Patricia Benner. Una muestra de conveniencia de n=30 profesionales de enfermería que trabajaban en Agencias de Salud en el Hogar y Hospicio en pueblos del centro de Puerto Rico. Se utilizó un instrumento de información demográfica con 12 premisas en el cual se recopiló información sobre experiencias personales, experiencias pasadas y experiencias profesionales. El segundo instrumento que se utilizó fue la Escala de Actitudes Hacia el Cuidado del Paciente en Etapa Terminal (FATCOD). La estadística descriptiva fue una medida de tendencia central y dispersión que se utilizó para la evaluación de la información demográfica.

KEYWORDS End-stage, nursing, home care, fatcod

PALABRAS CLAVE Etapa terminal, enfermería, cuidado en el hogar, fatcod

INTRODUCCIÓN

La simple idea de la muerte es atemorizante e incluso insopportable para muchas personas. Sin importar las creencias religiosas ni las costumbres, para cualquier persona es difícil imaginarse fuera de este mundo, por lo tanto el cuidado de los pacientes en etapa terminal es un desafío. Un profesional de enfermería con experiencia en el cuidado de pacientes en etapa terminal tendrá una actitud positiva y ofrecerá un servicio de alta calidad. Por otro lado un profesional de enfermería sin experiencia, experimentará temor al brindar cuidado a dichos pacientes. Utilizando la teoría de la Enfermera Experta de Patricia Benner (1984), los profesionales de enfermería pueden tomar un curso de manejo del paciente en etapa terminal, que les ayudará en la actitud hacia estos pacientes. El estudio consideró como paciente en etapa terminal a todo aquel paciente que se le

diagnosticó una condición de salud, cuyo pronóstico era pobre con una expectativa de vida de seis meses o menos. Algunas de las condiciones de salud que se encontraron en esta categoría fueron: tumores malignos, VIH, Alzheimer en etapa 4, fallo congestivo cardiaco descompensado, enfermedades renales sin trasplante y enfermedades hepáticas, entre otros. Según las estadísticas vitales del año 2002, en Puerto Rico murieron 28,098 personas. Los tumores malignos ocuparon la segunda posición de las causas de muerte en Puerto Rico con un total de 4,771 muertes (17%). El Alzheimer ocupó la octava posición con 985 muertes (3.5%). Las condiciones renales ocuparon la posición número once con 733 muertes (2.6 %) y las condiciones hepáticas ocuparon la posición número doce con 655 muertes (2.3 %). El HIV ocupó la posición números trece con 632

muertes (2.2%). Se puede observar que entre cinco condiciones hubo un total de 7,776 muertes, o sea un 27% del total de las muertes. Esto implica un alto porcentaje de muertes causadas por enfermedades terminales.

Dunn (2005) realizó un estudio descriptivo correlacional para examinar la relación entre las variables demográficas, las actitudes del profesional de enfermería hacia la muerte y el cuidado a los pacientes en etapa terminal. Ese estudio fue realizado en dos hospitales en el área metropolitana de Detroit y se utilizó una muestra de profesionales de enfermería que ejercían como enfermeras (os) médico quirúrgico en el área oncológica (n=58). La mayoría eran féminas blancas con una media de 41 años de edad.

Los métodos utilizados fueron: un examen demográfico y la escala de Actitudes de Frommelt hacia el cuidado del moribundo (FATCOD). Las principales variables de investigación fueron: experiencias previas (nivel de educación y adiestramiento hacia la muerte), experiencias personales (edad, raza, religión, y actitudes hacia la muerte), experiencias profesionales (meses o años de experiencia como profesional de enfermería y la cantidad de tiempo dedicado a pacientes en etapa terminal) y las actitudes hacia estos pacientes.

Los resultados de ese estudio reflejan que la mayoría de los participantes mostraron una actitud positiva hacia los cuidados ofrecidos a los pacientes en etapa terminal. Los profesionales de enfermería que dedicaron más tiempo a los cuidados del paciente en esta etapa, reportaron mejores actitudes. No se evidenció una relación significativa entre el cuidado brindado al paciente y las actitudes hacia la muerte. Las relaciones significativas fueron encontradas en las estadísticas entre ciertas variables demográficas, sub-escalas del Perfil Revisado de Actitud Hacia la Muerte (DAP-R) y la escala de FATCOD.

Dunn (2005) concluyó que no importa la actitud de las enfermeras (os) hacia la muerte, la calidad del cuidado brindado va a ser sobresaliente. Esos resultados generaron recomendaciones para la práctica de enfermería tales como implantar programas de educación que enseñen las estrategias para prevenir la ansiedad hacia la muerte, identificar y evitar las barreras que hacen difícil brindar el cuidado al paciente en etapa terminal, y que el profesional de enfermería novato llegue a ser un profesional de enfermería con experiencia.

Rooda, Clements & Jordan (2000) realizaron una investigación para examinar las posibles relaciones entre las variables demográficas y las actitudes de los profesionales de enfermería hacia la muerte y los pacientes en etapa terminal. Este estudio descriptivo se realizó en un hospital privado y en las oficinas de la Asociación de Enfermeras Visitantes cubriendo una diversidad étnica en el área metropolitana del medio oeste de Estados Unidos. En el estudio participaron profesionales de enfermería, donde el (90%) eran féminas y (70%) caucásicas, con una media

de 41.8 años de edad (N=403). Los métodos utilizados fueron: FATCOD, DAP-R y un cuestionario demográfico. Las principales variables de investigación fueron las actitudes hacia la muerte y el cuidado de personas en etapa terminal. De esa investigación se concluyó que las actitudes de los profesionales de enfermería y sus experiencias previas ayudaban a predecir la actitud que tendrían al ofrecer servicio a pacientes en etapa terminal.

Mallory (2003) realizó una investigación para estudiar si el componente educativo influye en el cuidado paliativo de los profesionales de enfermería subgraduados. Los educadores de enfermería identifican que los estudiantes de enfermería no están capacitados para brindar cuidado a los pacientes en etapa terminal.

Esa investigación incorporó un aprendizaje de experiencia usando un modelo de educación de muerte y una teoría de aprendizaje transformativa. La experiencia educativa se planificó para ayudar a los estudiantes a comprender las habilidades necesarias para un cuidado competente y compasivo hacia el paciente en etapa terminal. El uso de un programa educativo hacia la muerte junto con la experiencia en los hospicios, funeral, el laboratorio de anatomía y una actuación simulada ayudaron a facilitar el aprendizaje transformativo en los estudiantes de enfermería. En el estudio se examinó si la experiencia educativa en un formato de seis semanas provee un efecto suficiente y duradero.

Los resultados de ese estudio indicaron que la educación puede tener un efecto positivo en las actitudes de los estudiantes de enfermería hacia el paciente en etapa terminal. Estudiantes de enfermería en el grupo de intervención tuvieron un aumento en actitudes positivas hacia el paciente en etapa terminal luego de 4 semanas de intervención.

Hainsworth (1996) realizó un estudio para determinar el efecto que tiene la educación hacia la muerte, la actitud y el comportamiento intencional de los profesionales de enfermería con experiencias en el cuidado del paciente en etapa terminal y su familia. Se tomó una muestra de profesionales de enfermería n=28 (n=14 grupo experimental, n=14 grupo control). Ambos grupos completaron el cuestionario de actitudes, normas subjetivas y comportamiento intencional de los profesionales de enfermería hacia el paciente en etapa terminal y su familia (Waltman, 1990), utilizando un formato de pre-prueba y post-prueba.

El grupo experimental recibió una intervención educativa de tres clases de experiencia de dos horas cada una. El grupo control no recibió ninguna educación. Las principales variables de investigación fueron: la educación hacia la muerte y las actitudes de los profesionales de enfermería, normas subjetivas y comportamiento intencional hacia el cuidado del paciente moribundo y su familia. Entre los hallazgos se encontró que la

intervención educativa tuvo un efecto significativo y positivo en las normas subjetivas. No se encontró diferencia significativa en las actitudes y comportamiento intencional.

Frommelt (1991) realizó un estudio para determinar la efectividad de un programa educativo en las actitudes del profesional de enfermería hacia el cuidado del paciente en etapa terminal y su familia. El programa estaba basado en el concepto de cuidado en hospicio, incluyendo una sección didáctica basada en los estadios de Kubler-Ross de la muerte y etapa terminal, y un modelo de actuación diseñado por el investigador.

La muestra estaba compuesta por profesionales de enfermería registrados ($n=34$), de 18 a 65 años que ejercían en el medio oeste de Estados Unidos. La escala FATCOD fue designada por el investigador para estudiar las actitudes del profesional de enfermería ya que es una herramienta válida y confiable. Todos los profesionales de enfermería completaron la prueba antes y después del programa educativo (pre-prueba y post-prueba). Comparadas con la prueba -t, las puntuaciones del profesional de enfermería fueron significativamente altas después de su participación en el programa educativo. El valor de la prueba-t fue de 2.97, significativamente más baja que el nivel 0.01. Estos hallazgos están acorde con la hipótesis que establece que los profesionales de enfermería tienen una actitud más positiva hacia los cuidados del paciente en etapa terminal y los miembros de su familia después de la participación en el programa educativo. Se incluyó información demográfica como edad, años de experiencia en enfermería, grados obtenidos, tipo de preparación en enfermería, y educación previa hacia la muerte y etapa terminal. Estas fueron analizadas para determinar su relación respecto a las actitudes del profesional de enfermería mediante análisis de varianza (ANOVA) $F=3.22$, $F_{PROB}=0.04$, significa un nivel de menos de 0.05.

Roman, Sorribes & Ezquierro (2001) realizaron una investigación sobre las actitudes de los profesionales de enfermería respecto a los pacientes en etapa terminal. El objetivo de este estudio fue identificar la actitud de estos profesionales hacia este tipo de pacientes y la relación de esa actitud respecto a diversos datos socio-demográficos (tipos de centros, años de experiencia, edad, sexo) por medio de un método cuantitativo. La muestra constó de profesionales de enfermería $N=175$ que trabajaban en 18 hospitales y hospicios. Los datos fueron analizados semánticamente asociables al campo diferencial por medio del contexto del programa de computadora y de una evaluación cuantitativa del grado de la positividad de las actitudes.

El estudio reveló una leve tendencia en actitudes negativas hacia el paciente en etapa terminal. Una actitud más positiva se observó en profesionales con experiencia y en mujeres. La actitud positiva disminuyó entre los profesionales del turno de la noche. No se observó diferencias entre los profesionales de

enfermería que trabajaban en el hospital y los que trabajaban en los hospicios. Concluyeron que las actitudes de los profesionales de enfermería se pueden modificar por medio de programas de adiestramiento y de un acercamiento profesional adecuado.

En esa investigación se utilizaron los conceptos de Benner (1984) de Novato a Experto, los cuales fueron utilizados operacionalmente en las variables y para desarrollar las preguntas de investigación. Benner adoptó y modificó el Modelo de Adquisición de Destrezas de Dreyfus para explicar cómo los profesionales de enfermería se convirtieron en expertos en la práctica clínica. Para Benner, el profesional de enfermería adquiere conocimiento clínico en el aprendizaje experimental en cinco niveles: novato, novato avanzado, competente, eficiente, y experto.

En el nivel de novato, los profesionales de enfermería no tienen ninguna experiencia, entonces dependen de unas reglas dadas y guías para ayudar sus trabajos. Los profesionales de enfermería novatos avanzados están empezando a usar los conocimientos que han aprendido sobre procedimientos y situaciones clínicas reales. Los profesionales competentes tienen estrategias que los ayudan a manejar problemas clínicos y desarrollar metas de largo tiempo o planes de acción que son eficientes y organizados. Los profesionales eficientes son capaces de reconocer los aspectos importantes de una situación clínica usando perspectivas holísticas. En el último nivel, los profesionales de enfermería se convierten en trabajadores expertos. En ese nivel, las experiencias del pasado y conocimiento teórico influyen en el cuidado dado a los pacientes y guían el entendimiento del proceso de enfermedad de los profesionales de enfermería. Al contrario del profesional novato, el profesional experto ha desarrollado una visión intuitiva de situaciones clínicas y es capaz de diagnosticar inmediatamente y dar prioridad a los problemas.

El comportamiento, o la manera en que los profesionales de enfermería brindan el cuidado a los pacientes en etapa terminal o moribundos, (Heidegger, 1962; Rittman, Paige, Rivera, Sutphin, & Godown, 1997), puede ser conceptualizado como uno de los aspectos de la adquisición del conocimiento clínico según descrito por Benner (1984). El conocimiento clínico que se adquiere por experiencias personales y profesionales es diferente al conocimiento teórico enseñado formalmente en programas educativos de enfermería. La experiencia personal y profesional puede afectar no solamente el cuidado dado a los pacientes en etapa terminal o moribundo, sino también a la actitud del profesional de enfermería hacia la muerte.

En esta investigación, el nivel de educación y el entrenamiento hacia la muerte se conceptualizan como experiencias del pasado. La edad, religión, y las actitudes hacia la muerte se conceptualizan como experiencias personales y los meses de experiencia como profesionales de enfermería y la cantidad de

tiempo pasado en contacto con los pacientes en etapa terminal o moribundos se conceptualizan como experiencias profesionales. Según Benner (1984), todas estas variables deben estar asociadas entre sí.

MATERIALES Y MÉTODOS

El propósito primario del estudio fue determinar la relación que existe entre la experiencia del profesional de enfermería y las actitudes hacia el cuidado al paciente en etapa terminal o moribundo. El diseño de este estudio fue uno descriptivo correlacional que examinó cómo las diferentes variables influyen en las actitudes del profesional de enfermería hacia el cuidado al paciente en etapa terminal. No se controló ni se manipuló ninguna de las variables. Este diseño permitió al investigador medir la variable dependiente (las actitudes hacia el paciente en etapa terminal o moribundo) y la variable independiente (las experiencias del profesional de enfermería).

Muestra. Se seleccionó una muestra de conveniencia. Los criterios de exclusión para este estudio fueron: personas con enfermedades mentales, enfermeras prácticas, profesionales de enfermería que no brinden servicio en área seleccionada que trabajen en otras áreas que no sean las agencias de Salud en el Hogar u Hospicio y estudiantes de enfermería.

Los criterios de inclusión fueron: profesionales de enfermería graduados y registrados, orientados en tiempo, lugar y persona, que laboraran en las agencias de Salud en el Hogar y Hospicio, con experiencia en el cuidado del paciente en etapa terminal, que su lugar de trabajo fuera en los pueblos del centro de Puerto Rico, que su edad fluctuara desde 18 a 55 años y que hablaran y leyeron eficientemente el idioma español. Se seleccionó a 30 profesionales de enfermería que trabajaban en agencias de Salud en el Hogar y Hospicios en los pueblos del centro de Puerto Rico. Según el Censo del 2000 estos pueblos tienen una población de aproximadamente de 107,474. Los pueblos antes mencionados están localizados en el área central de Puerto Rico. Las agencias que cubren estos pueblos son agencias privadas que operan aproximadamente con 90% de fondos federales pagados por Medicare. El otro 10% corresponde a planes médicos privados y reforma de salud (Estadísticas de las agencias de Salud en el Hogar y Hospicio, 2005).

El primer instrumento que se utilizó fue desarrollado para medir la información demográfica. El mismo constó de 12 premisas, tales como sexo, años, estatus marital, nivel más alto de educación, programas educativos previos relacionados a la muerte o pacientes moribundos, lugar del trabajo, religión, experiencias previas con pacientes en etapa terminal, lugar de residencia y la composición familiar.

El segundo instrumento que se utilizó fue la escala de FATCOD (Frommelt, 1991). Constó de 30 premisas, las cuales miden las actitudes hacia el cuidado al paciente en etapa terminal. El

FATCOD estuvo compuesto de un número igual de premisas positivas y negativas que fueron evaluadas en una escala de cinco puntos de Likert donde 1 es ‘totalmente en desacuerdo’ y 5 ‘totalmente de acuerdo’. Una premisa positiva fue “Proveer cuidado de enfermería al paciente moribundo es una experiencia de aprendizaje valioso” y una premisa negativa fue “No me gustaría que me asignaran a cuidar a un paciente en etapa terminal o moribundo”. Los rangos de las puntuaciones fluctuaron desde 30-150, donde las puntuaciones más altas representaron actitudes más positivas hacia el paciente en etapa terminal o moribundo.

RESULTADOS

Las características demográficas de la muestra fueron analizadas utilizando una estadística descriptiva que incluyó frecuencia, media, desviación estándar y análisis porcentual.

Tabla 1. Características demográficas de los profesionales de enfermería que participaron en el estudio. Se presentan las respuestas que obtuvieron la mayor frecuencia.

Característica demográfica	Respuesta con mayor frecuencia
Edad	40 años
Estado civil	Casado
Composición familiar	Cuatro miembros
Religión	Católicos
Nivel de educación	Bachillerato
Años de servicio	13 años
Años de servicio a pacientes en etapa terminal	6 meses a 30 años
Lugar de trabajo	Salud en Hogar y Hospicio
Si ha tomado cursos sobre cuidado a pacientes en etapa terminal	Sí

Características demográficas. Entre noviembre y diciembre de 2006, 30 profesionales de enfermería de varias agencias de Salud en el Hogar y Hospicios, fueron cualificados para participar en este estudio. La edad de los participantes fluctuó entre los 26 a 54 años. La media de las edades fue de 40.07 años. Un 90% de los participantes son profesionales de enfermería casados y 46.7% contestó que su composición familiar era de cuatro miembros. Un 60% contestó que la religión que practicaban era la católica y un 40% que pertenecen a las religiones protestantes. En cuanto al nivel de educación, 73.3% de los participantes poseen un bachillerato en ciencias de enfermería, mientras que el 26.7% posee un grado asociado. Los años como profesional de enfermería fluctúan desde cuatro hasta 31 años. Dos terceras partes (20) de los participantes o sea el 67% llevan más de trece (13) años trabajando como profesionales de enfermería. En cuanto a los años brindando cuidado a pacientes moribundos, fluctuaron desde seis meses hasta 30 años. Los 30 participantes (100%) están trabajando en

diferentes agencias de Salud en el Hogar y Hospicios. Veinticuatro (24) de los treinta participantes (80%) contestaron que han tomado cursos educativos de cuidado a pacientes en etapa terminal (tabla 1).

Instrumento de Frommelt. Se utilizó un análisis descriptivo para computarizar la escala de FATCOD. Esta escala fue utilizada para medir las actitudes del profesional de enfermería con relación a varias controversias asociadas al cuidado brindado a los pacientes moribundos. Puntuaciones altas en el FATCOD indicaron actitudes positivas hacia brindar cuidado a pacientes en etapa terminal. Los participantes de este estudio reportaron que brindar cuidado y soporte emocional es beneficioso tanto para el paciente en etapa terminal como para su familia. Las puntuaciones fluctuaron desde 97 hasta 136 con una media (*M*) de 118.86 y una mediana de 118.5.

DISCUSIÓN

Los profesionales de enfermería con mayor tiempo en contacto con pacientes en etapa terminal reportaron más actitudes positivas que los que llevaban menos tiempo. Los profesionales de enfermería que dedicaron más tiempo a los cuidados del paciente en esta etapa reportaron mejores actitudes o actitudes positivas. La actitud de los profesionales de enfermería hacia la muerte y su contacto actual con los pacientes en etapa terminal fue predictiva en sus actitudes en el cuidado del paciente terminal o moribundo.

La educación tiene un efecto positivo en las actitudes hacia el paciente en etapa terminal. Los resultados de esta investigación están acorde con el estudio que realizó Frommelt (1991) para determinar la efectividad de un programa educativo en las actitudes del profesional de enfermería hacia el paciente en etapa terminal y su familia. Ambos estudios concluyeron que estos profesionales tienen una actitud más positiva hacia los cuidados del paciente en etapa terminal y los miembros de su familia después de la participación en un programa educativo.

En términos demográficos, este estudio está acorde con el estudio realizado por Román y sus colegas (Román et al., 2001), en el cual se concluyó que los datos socio-demográficos influyeron en las actitudes hacia el paciente en etapa terminal. En ambos estudios se observó que profesionales con experiencia mostraron actitudes positivas.

CONCLUSIÓN

Así como la población del adulto viejo continúa en aumento, la demanda del profesional de enfermería para brindar cuidado a estos pacientes también continúa creciendo. Los resultados de este estudio sugieren que mientras más experiencia tenga el profesional de enfermería con el paciente en etapa terminal o moribundo mejores actitudes tendrá hacia el cuidado a estos

pacientes. Continuar desarrollando cursos educativos efectivos es beneficioso para aquellos profesionales de enfermería a los que le causa ansiedad brindar cuidado al paciente terminal o moribundo. Identificar las barreras que pueden hacer que el brindar cuidado al paciente terminal sea difícil y desarrollar intervenciones para prevenir la ansiedad a la muerte, puede hacer que el profesional de enfermería se convierta en un experto y sus experiencias sean apremiantes y gratificantes. El paciente en etapa terminal requiere de excesivos cuidados por parte del profesional de enfermería.

La información generada en este estudio puede ayudar a identificar a los profesionales de la salud con una actitud positiva respecto a los pacientes en etapa terminal. La investigadora recomienda que se realicen otros estudios, pero con estudiantes de enfermería en el último año de estudio para evaluar sus actitudes y compararlas con el profesional de enfermería con experiencia en el cuidado del paciente en etapa terminal o moribundo.

REFERENCIAS

- Benner, P. (1984). *From novice to expert: Excellence and power in clinical nursing practice*. Menlo Park, Addison-Wesley.
- Colell R., Limonero, J. y Otero, M. (2003). Actitudes y emociones en estudiantes de enfermería ante la muerte y la enfermedad terminal. *Investigación en Salud* 5. 234 – 247
- Cooper, J., & Barnett, M. (2005). Aspect of caring for dying patients which cause anxiety to first year student nurses. *Journal of Advanced Nursing*. 11, 423 – 430
- Dunn, K., Otten, C., & Stephens, E. (2005). Nursing experience and the care of dying patients. *Oncology Nursing Forum*. 32, 97-104.
- Frommelt, K. (1991). The effect of death education on nurse' attitudes toward caring for terminally ill persons and their family. *American Journal of Hospice and Palliative Care*. 8, 37 – 43.
- Hainsworth, D. (1996). The effect of death education on attitudes of hospital nurses toward care of the dying. *Oncology Nursing Forum*. 23, 963 – 967.
- Mallory, J. (2003). The impact of a palliative care educational component on attitudes toward care of the dying in undergraduate nursing students. *Journal of Professional Nursing*. 19, 305 – 312.
- Miles, M. (1980). The effect of a course on death and grief on nurses' attitudes toward Dying patients and death. *Dead Education*. 4, 245 – 260.

Owens, R., & Cronin, S. (1998). Nurses' attitudes towards cost-effectiveness and quality of Care. *Cost Quality Q.J.* 4, 18 – 22.

Roman, E., Sorribes, E., Equerro O. (2001). Nurse's attitudes to terminally ill patients. *Journal of Advanced nursing*, 34, 338–345

Rooda, I., Clements, R., & Jordan, M. (1999). Nurses' attitudes toward death and caring for dying patients. *Oncology Nursing Forum*. 26, 1883 – 1687.

Waltman, N. (1990). Attitudes, subjective norms, and behavioral intentions of nurses toward dying patients and their families. *Oncology Nursing Forum*. 17.

AUTORA/AUTHOR

Leinyn Hernández Corraliza. Es Instructora a jornada parcial en el Departamento de Enfermería del Recinto de Arecibo de la Universidad Interamericana de Puerto Rico. Posee un grado de M.S.N. en Ciencias de Enfermería con especialidad en comunidad. Puede ser contactada a través del correo electrónico: lherandez@arecibo.inter.edu

Part time instructor in the Nursing Department of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Holds an M. S.N. in Nursing Sciences with a specialization in community nursing. May be contacted via email: lherandez@arecibo.inter.edu

Evaluation of Different Methods for the Isolation of Genomic DNA from *Boa constrictor* Tissue

Evaluación de diferentes métodos para aislar ADN genómico de tejido de la *Boa constrictor*

Rivera-Ostolaza, L., Irizarry-Rosario, A., Santiago-Maldonado, M., and Romero-Pérez, L.

Science and Technology Department, Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus

ABSTRACT

A genetic analysis is the ability to identify and study individuals based on their DNA. There is an increased interest in the study of species using molecular techniques. *Boa constrictor* is one of the largest snake species in the world. Native from Central and South America, it is currently an invasive species in Puerto Rico. Invasive species affect our native biodiversity in a number of ways. It is of our interest to focus on the genetic analysis of the *Boa constrictor*. Successful isolation of genomic DNA is key to perform good genetic analysis, so the objective of this research is to compare and evaluate different extraction methods to determine which is the most suitable to obtain high quality and quantity of genomic DNA from snake tissue. Eight methods were tested and it was concluded that the most effective methods were the method that used phenol/chloroform and a commercially available kit. Future plans include isolation of DNA from embryonic tissue to perform evolutionary studies by analyzing *HOX* genes in *Boa constrictor*.

RESUMEN

El análisis genético permite identificar y estudiar individuos basado en su ADN. Recientemente, se ha observado gran interés en el estudio de las especies utilizando técnicas moleculares. *Boa constrictor* es una de las especies de serpientes más grandes en el mundo. Es nativa de América Central y del Sur, pero actualmente es una especie invasiva en Puerto Rico. Las especies invasivas afectan la biodiversidad, por ello nuestro interés en estudiar esta especie a nivel genético. Para lograr un buen análisis es necesario que se pueda aislar eficientemente ADN genómico. El objetivo de este trabajo es comparar diferentes métodos de extracción para determinar cuál es más eficiente para obtener ADN en alta cantidad y de alta calidad. Ocho métodos se utilizaron y se concluyó que los más efectivos fueron el método que utilizada fenol/cloroformo y un método basado en reactivos comerciales. Parte de los planes futuros es poder aislar ADN de embrión para llevar a cabo estudios de evolución mediante el análisis de los genes *HOX* en la *Boa constrictor*.

KEYWORDS Genomic DNA, *Boa constrictor*, genetics, snakes

PALABRAS CLAVE ADN genómico, *Boa constrictor*, genética, serpientes

INTRODUCTION

Genetic analysis is the ability to identify study and comprehend the biological and physical characteristics of individuals based on their DNA. This can be used for evolution studies, forensics, and paternity testing, identification of species and disease detection and progression, ecological studies, taxonomy and population identification (Villareal, Bricker, Reinert, Gelbert, & Busher, 1996; Lukoschek & Avise, 2011; Correa, & Oguiura, 2013).

With the advancement of technology and studies at the molecular level, there has been an increase in the interest of studying snake genetics. Lukoschek and Avise (2011) performed a study on paternity of the true sea snake in order to test the possibility of multiple paternity on that species. They analyzed 10 microsatellite loci and determined monandry on all the studied cases. This result was contrary at what they were expecting

(Lukoschek & Avise, 2011). Row and colleagues performed genetic analysis to study the factors that influence the dispersal of the eastern fox snake (Row, Blouin-Demers & Lougheed, 2010). They analyzed the samples by genotyping for 11 microsatellite loci.

Studies on population ecology and sexual selection on snakes have been possible due to molecular tools (Gibbs & Weatherhead, 2001). Classification of snakes, it is now based on molecular phylogenetic studies coupled with the classic morphology classification (Dong and Kumazawa, 2005). By applying molecular genetics deep branching of the phylogeny of snake lineages can be studied. Correa and Oguiura performed phylogenetic studies on three snake species to identify evolutionarily conserved genes associated with immunity (Correa, & Oguiura, 2013). Dalla Valle and colleagues studied

proteins on the skin of snakes (Dalla Valle, Nardi & Alibardi, 2010), which are responsible of the degrees of hardness of scales. To study the skin proteins they isolated genomic DNA.

Recently, a genetic study of the *Boa constrictor* was published (Reynolds, Puente-Rolón, Reed & Revell, 2013). *Boa constrictor* is a non-poisonous snake that lives in tropical areas of South and Central America and is currently an invasive species in Puerto Rico. Reynolds and colleagues study the invasion of this species in the island using mitochondrial DNA. A total of 27 samples were analyzed and by comparing six microsatellite loci, they proposed that the invasion of the specie was likely to be the result of propagation from a line at a zoo or from breeder's collections (Reynolds et al., 2013).

In order to perform a good genetic analysis it is important to be able to obtain DNA of good quality. Previous studies have used extraction methods that require the use of phenol: chloroform or have used commercially available kits to obtain DNA from snake tissues (Villareal et al., 1996; Dalla Valle et al., 2010; Lukoschek & Avise, 2011). This research aims to compare different methods of DNA extraction to determine which is the most suitable to obtain high quality and quantity of genomic DNA from *Boa constrictor* tissue and evaluate the time each method takes.

MATERIALS AND METHODS

Samples of *Boa constrictor* tissue (muscle, skin) were donated by Dr. Alberto Puente-Rolón. Each sample was rinsed with sterile water, when ready to be used, and analyzed in duplicate.

DNA isolation

Eight different methods were used for the isolation of DNA. Each method was arbitrarily named for study purposes.

Method One: This method was previously used by Rojas and colleagues (Rojas, Ramírez, Cobos & Castro, 2011) for isolating gDNA from snake skin. This method was performed using 0.05 g and 0.08 g of snake tissue (muscle). At first, 900 µl of lysis buffer (10 mM Tris-Base, 100 mM EDTA, 2% SDS, pH=8) and 9 µl Proteinase K (1 mg/ml) were added to the tissue and incubated for 24 hrs at 65 °C. After incubation the sample was left for 5 min at room temperature and then 300 µl of 7.5 M ammonium acetate were added. Sample was incubated for 15 min on ice and then centrifuged at 15000 rpm for 3 min (4 ° C). The supernatant was removed and 500µl of chloroform: isoamyl alcohol (24:1), were added. Sample was mixed by inversion and centrifuged (15000 rpm 3 min 4 ° C). The supernatant was removed and 900 µl of isopropanol were added. Sample was incubated for 12 hours at 4 °C. After incubation the sample was centrifuged, (15000 rpm 15 min 4 ° C), supernatant removed and sample left to dry for 3 min. A rinse with 700 µl of ethanol 70% was performed and then the sample was centrifuged (15000 rpm,

3 min, 4 °C). Supernatant was removed and sample left to dry for 5 min. Finally the DNA was resuspended with 80 µl TE Buffer (10 mM Tris, 0.1 mM EDTA) and stored at -20 °C.

Method Two: This method was an adaptation of the method for isolating gDNA from bacteria using phenol/chloroform (Ausubel, 2002). A total of 500 µl lysis Buffer (Tris/EDTA), 2 µl RNase (10 mg/ml), 30 µl SDS 10% and 3 µl proteinase K (20 mg/ml) were added to the tissue. Sample was mixed by inversion and incubated for 30 min at 37 °C. After incubation, 500 µl of chloroform: isoamyl alcohol (24:1) were added to the sample, mixed, and centrifuged (14,000 rpm, 4 °C 10 min). The gDNA was collected and transferred to a new tube. To allow precipitation, 100 µl sodium acetate 3M were added and incubated for 30 min -20 °C. Sample was centrifuged (14,000 rpm, 4 °C 10 min), supernatant discarded, and 500 µl of ethanol 70% were added. The sample was centrifuged (14,000 rpm, 4 °C 10 min), the supernatant removed and the sample left to dry for 15 min. Pellet was resuspended with 30 µl TE (Tris-EDTA) and stored at -20 °C.

Method Three: This method was an adaptation of the phenol: chloroform method. Tissue was lysed using 1000µl lysis Buffer (10mM Tris-Cl, 1mM EDTA, 0.1% SDS), 15µl Proteinase K and incubated for 16 hrs at 55°C. Sample was left at room temperature for 10min. A total of 15µl RNase (4mg/ml) were added to the sample and incubated for 60 minutes at 37°C. After incubation sample was left at room temperature (10min) and 1 ml of potassium acetate was added. Sample was mixed by vortex (20 seconds) and 1 ml of ethanol 70% was added followed by centrifugation (15,000rpm, 4°C, 2 min). The supernadant was removed, pellet allowed to dry for 15 min and resuspended with 10 µl TE (Tris EDTA). DNA was stored at -20°C.

Method Four: This method was previously used for isolating gDNA from larvae and fish tail (Lopera-Barrero et al., 2008). The tissue was lysed using 550 µl de lysis buffer (50mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.50 mM EDTA, 100 mM NaCl), 1% SDS and 7 µl proteinase K (20 mg/µl) and with incubation at 50 °C for 12 hrs. A total of 600 µl of NaCl 5M where added, followed by centrifugation for 10 min at 12000 rpm. The supernatant was collected and transferred to a new tube. DNA was precipitated with 700 µl cold ethanol and incubated at -20 °C for 2 hrs. Samples were rinsed with ethanol 70% and resuspended with 80 µl TE (10 mM Tris y 1 mM EDTA) and RNase (30 mg/ µl) followed by incubation at 40 min for 37 °C. Samples were stored at (-20 °C).

Method Five: This method was previously used for the isolation of gDNA from lungs of cancer patients (Kim et al., 2013). Briefly, 100 µl of lysis or extraction buffer (50 mM Tris, 1 mM EDTA and 5% Tween-20, 200 µg/ml proteinase K) where added to the tissue and incubated at 56 °C for 1hr, followed by 20 min incubation at 100 °C. Sample was centrifuged (12,000 rpm, 10 min, 4 °C) and supernatant collected and stored at -20 °C.

Method Six: This method was previously used for isolating DNA from tissues fixed with paraffin (Jiménez Arce, Villalobos Quesada, Jiménez Montero & Palma Platero, 2007). The method was modified as follows. First, sample was rinsed with 1 ml of wash buffer (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl and 15 mM MgCl₂), centrifuged (12,000 rpm, 10 min, and 4 °C) and supernatant removed. A total of 1 ml of wash buffer was added again to the sample and subjected to microwave radiation for 6 min. Sample was exposed to radiation at intervals of 15 seconds. After the 6 min radiation, sample was centrifuged. Supernatant was collected and stored at -20 °C.

Method Seven: Genomic DNA was isolated using Extract-N-Amp Tissue PCR Kit from Sigma Aldrich Company. Duplicate samples are used. Sample was processed as recommended by manufacturer. Briefly, a total of 100 µl of extraction solution and 25 µl of preparation solution were added to the tissue and left for 10 min at room temperature. Sample was incubated at 95 °C for 3 min on a heat block. Finally 100 µl of neutralization solution was added and sample stored at -20 °C.

Method Eight: Sample was processed using the DNeasy Blood and Tissue Kit from Qiagen following the recommendation of manufacturer. DNA was stored at -20 °C.

RESULTS

A summary of the absorbance ratio (260/280nm) of the isolated DNA is presented on table 1. Pure gDNA samples must have an absorbance ratio between 1.7 and 1.9. The methods that presented the purest samples were method one, three and eight. Method one showed a ratio of 1.85 and method three 1.77 for gDNA isolated from muscle. Method eight shows 1.82 for the gDNA isolated from skin. Methods two, four and seven gave the lowest ratios for the isolated samples. Method two and four were previously used for isolating gDNA from bacteria and fish larvae, respectively (Lopera-Barrero et al., 2008). The seventh method was a commercially available kit.

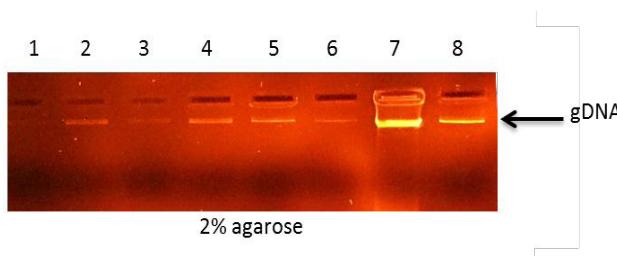


Figure 1. Genomic DNA extracted from frozen tissue or ethanol preserved tissue using method one. Samples were analyzed on a 2% agarose gel. Lanes 1-4 show gDNA isolated from 0.05 mg of tissue and lanes 5-8 show gDNA from 0.08 mg.

Isolated DNA was analyzed on 2% agarose gels. Figure 1 shows the DNA isolated from muscle using method one. This method

was previously used for the isolation of DNA from the skin of the snake *Bothrops atrox* (Rojas et al., 2011). DNA was isolated from muscle samples of 0.08 g and 0.05 g. Method three was previously used for the isolation of DNA from liver and human blood (Ausubel, 2002).

Figure 2 shows gDNA isolated from muscle using method three and the isolated DNA using a commercially available kit from Qiagen (method eight) is shown on figure 3.

Table 1. Purity of isolated DNA (Absorbance ratio 260/280 nm).

Method	Sample (80 mg)	260/280 nm
1	Muscle	1.85
	Skin	1.53
2	Muscle	0.69
	Muscle	1.77
4	Muscle	0.66
	Skin	0.76
5	Muscle	1.19
	Skin	1.11
6	Muscle	2.29
	Skin	1.34
7	Muscle	0.78
	skin	0.92
8	Muscle	2.07
	Skin	1.82

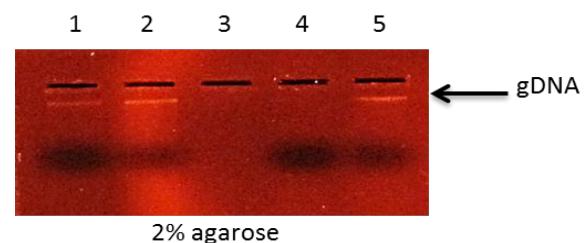


Figure 2. Genomic DNA extracted from muscle using method three. Lanes 1-2 show gDNA isolated from 0.08 mg of tissue and lanes 4-5 show gDNA isolated from 0.05 mg of tissue.

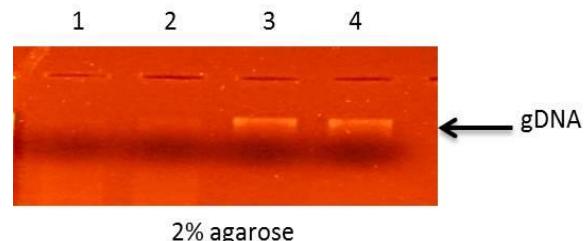


Figure 3. Genomic DNA extracted from muscle and snake skin using DNeasy Blood and Tissue Kit from Qiagen. Lanes 3-4 show DNA isolated from snake skin.

Methods one, three and eight allowed the isolation of pure gDNA. The concentration of DNA recovered from each method is shown in Table 2. Method one gave the highest concentration of 279.65 ng/µl of DNA. Methods three and eight allowed a

similar amount of DNA to be isolated; 28.65 and 23.98 mg/ μ l, respectively.

Table 2. Average concentration of isolated gDNA and time to obtain DNA (time the procedure took).

Method	Concentration (ng/ μ l)	Time
1	279.65	2-3 days
3	28.65	~18 hrs
8	23.98	

DISCUSSION

Purity of DNA is crucial for good genetic analysis and it can be determined by spectrophotometry and by electrophoresis. Pure DNA must show an absorbance ratio (260/280 nm) in the range of 1.7 to 1.9. Methods one, three and eight gave samples with ratios between the required range, allowing the isolation of DNA of good quality. Methods two, four and seven gave the lowest ratios for the isolated sample. Method two was previously used for the isolation of DNA from bacteria and method four for the extraction of DNA from fish larvae (Lopera-Barrero *et al* 2008).

As far as DNA concentration, for method one the average value was 279.65 ng/ μ l. On the study performed by Rojas and colleagues (2011) the average concentration for DNA isolated from the skin of *Bothrops atrox* using this method was 586 mg/ μ l.

Table 3. Time and temperature of the lysis step for each extraction method.

Method	Temperature (°C)	Time (hr)
1	65	24
2	37	0.5
3	55	16
4	50	12
5	56	1
6	Microwave radiation	0.1
7	95	0.05
8	56	min

When the experimental procedure is evaluated, two important factors are noticed: time and temperature to lyse the cells. Table 3 shows the temperature and time for the lysis step on each method. Method one takes 24 hours to lyse the cells at 65 °C. It is the longest time on all the methods. This is probable the reason why this method was the most efficient to isolate DNA from snake tissue. The lysis on method two was at 37 °C for 30 min; this is the lowest temperature for lysis. As previously discussed this method has been used for isolating DNA from bacteria, but was not appropriate for the isolation of DNA from snake tissue (table 1).

The third method evaluated allowed the isolation of DNA of good quality, as shown by the spectroscopic analysis (table 1) and by the bands observed on figure 2. The lysis step for this method took 16 hours at 55 °C. Results show that the lysis step is crucial for the isolation process.

Dong and Kumazawa (2005) studied phylogeny of six snake families at a molecular level. They isolated mitochondrial DNA using DNeasy kit from Qiagen. Row and colleagues used the same method to isolate DNA from blood and tissue of the eastern foxsnake (Row *et al.*, 2010). On the other hand Lucoschek and Avise (2011) used phenol/chloroform to isolate DNA from embryonic tissue of the true sea snake.

Previous studies have evaluated the use of phenol:chloroform for the isolation of DNA due to toxicity issues. In a study performed by Lopera-Barrero and colleagues, they tried to substitute phenol:chloroform with high concentrations of NaCl (Lopera-Barrero *et al.*, 2008). For the isolation of DNA from fish larvae the method was effective. In our case the method was tested, but was not efficient for snake tissue (Table 1).

CONCLUSION

After testing eight methods for the isolation of gDNA from *Boa constrictor* tissue, we concluded that there were two efficient methods: method one and eight. Method one was a modification of the traditional phenol chloroform method. This gave the best purity ratios and the highest quantity. The only drawback is the toxicity of the reagents and the time that the procedure takes. Method eight was a commercially available kit that allowed fast isolation of gDNA, but the concentration and purity was lower than the one obtained with method one.

For future plans we want to isolate gDNA from muscle and embryonic tissue to perform evolutionary studies on the *Boa constrictor* by the analysis of HOX genes, which are conserved among vertebrates.

ACKNOWLEDGMENTS

We want to thank the Xerox Foundation, Dr. Rafael Ramírez Rivera (Chancellor), Dr. Annette Vega (Dean of Academic Affairs) and Prof. Ilvis Aguirre (Dean of Student Affairs), Dr. Alberto Puente-Rolón, for providing the tissue, Mr. Jose Arce, Mrs. Vanessa Gonzalez and Mr. Armando Herrera for all their help on the laboratories. This research was possible with the support of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus.

REFERENCES

- Ausubel, F.M. (2002). *Short Protocols in Molecular Biology*. USA: John Wiley & Sons.
- Chen, H., Rangasamy, M., Tan, S.Y., Wang, H., & Siegfried, B.D. (2010). Evaluation of five methods for total DNA extraction from western corn rootworm beetles. *PLoS ONE*, 5(8), e11963.
- Correa, P.G., & Oguiura, N. (2013). Phylogenetic analysis of β -defensins-like genes of *Bothrops*, *Crotalus* and *Lachesis* snakes. *Toxicon*, 69, 65-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2013>.

- Dalla Valle, L., Nardi, A., & Alibardi, L. (2010). Isolation of a new class of cysteine-glycine-proline-rich beta-proteins (beta-keratins) and their expression in snake epidermis. *Journal of Anatomy*, 216, 356-367.
- Dong, S., & Kumasawa, Y. (2005). Complete mitochondrial DNA sequences of six snakes: phylogenetic relationships and molecular evolution of genomic features. *Journal of Molecular Evolution*, 61, 12-22.
- Gibbs, H.L., & Weather H. (2001). Insights into population ecology and sexual selection in snakes through the application of DNA-based genetic markers. *Journal of Heredity*, 92(2), 173-179.
- Jiménez Arce, G., Villalobos Quesada, M.J., Jiménez Montero, E., & Palma Platero, W. (2007). Determinación de la efectividad de cinco protocolos de extracción de ADN a partir de material parafinado para estudios moleculares. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*, 1(1).
- Kim, H.J., Oh, S.Y., Kim, W.S., Kim, S.J., Yoo, G.H., Kim, W.D., & Lee, K.Y. (2013). Clinical investigation of EGFR mutation detection by pyrosequencing in lung cancer patients. *Oncology Letters*, 5, 271-276.
- Lopera-Barrero, N.M., Povh, J.A., Ribeiro, R.P., Gomes, P.C., Jacometo, P.C., & DaSilva-Lopes, T. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1), 77-86.
- Lukoschek, V., & Avise, J.C. (2011). Genetic monandry in 6 viviparous species of true sea snakes. *Journal of Heredity*, 102(3), 347-351.
- Quick, J.S., Reinert, H. K., De Cuba, E.R., & Odum, R.A. (2005). Recent Occurrence and Dietary Habits of *Boa constrictor* on Aruba, Dutch West Indies. *Journal of Herpetology*, 39(2), 304-307.
- Reynolds, R. G., Puente-Rolón, A. R., Reed, R. N., & Revell, L.J. (2013). Genetic analysis of novel invasion of Puerto Rico by an exotic constricting snake. *Biological Invasions*, 15, 953-959.
- Rojas, R., Ramirez, R., Cobos, M., & Castro, J. (2011). Purificación y amplificación de ADN genómico en escamas de la serpiente *Bothrops atrox* "jergón" (Ofidida: Viperidae). *Eci Perú*, 8(2), 234-237.
- Row, J.R., Blouin-Demers, G., & Lougheed, S.C. (2010). Habitat distribution influences dispersal and fine-scale genetic population structure of eastern foxsnakes (*Mintonius gloydi*) across a fragmented landscape. *Molecular Ecology*, 19, 5157-5171.
- Villareal, X., Bricker, J., Reinert, H.K., Gelbert, L., & Bushar, L.M. (1996). Isolation and characterization of microsatellite loci for use in population genetic analysis in the timber rattlesnake, *Crotalus horridus*. *Journal of Heredity*, 87(2).

AUTHORS/AUTORES

Lorraine Rivera-Ostolaza, Angélica Irizarry-Rosario y Mariliz Santiago-Maldonado. Received a B.A. in Biotechnology from the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Collaborated in research projects during their senior year.

Obtuvieron un grado de B.A. en Biotecnología la Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo. Colaboraron en proyectos de investigación durante su último año de estudios.

Lizbeth Romero Pérez. Assistant Professor and Director of the Science and Technology Department of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Holds a B.S. in Microbiology from the University of Puerto Rico and a doctoral degree in Biochemistry and Molecular Biology from the University of Medicine and Dentistry of New Jersey. Author of various articles published in peer reviewed journals. May be contacted via email: lromero@arecibo.inter.edu

Es Catedrática Auxiliar y Directora del Departamento de Ciencias y Tecnología la Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo. Tiene un B.S. en Microbiología de la Universidad de Puerto Rico y un grado doctoral en Bioquímica y Biología Molecular de la Univesidad de Medicina y Odontología de Nueva Jersey (UMDNJ). Es autora de varios artículos publicados en revistas profesionales. Puede ser contactada a través del correo electrónico: lromero@arecibo.inter.edu

Cálculos teóricos de entalpías estándar de formación y energías de disociación de enlace en isómeros de monocloronitrobenceno

Theoretical calculations of standard enthalpies of formation and bond dissociation energies on monochloronitrobenzene isomers

Vásquez Moll. D.V.

Departamento de Ciencias y Tecnología, Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo

ABSTRACT

The proposition of isodesmic reactions in the formation of chloronitrobenzene isomers and the application of methods in the Gaussian 03 package such as PM3, MP2 and B3LYP, allowed the estimation of the standard enthalpies of formation of these molecules at 298K. The calculated values showed agreement with the experimental data, revealing that the best method for reproducing the enthalpies of formation of isomers is PM3. Using the Morse Potential function to potential energy data as a function of the length of bond; allowed the determination of the dissociation energy of the C-Cl bond present on the isomers. Results confirm that 3-chloronitrobenzene and 4-chloronitrobenzene are the most stable molecules.

RESUMEN

La proposición de reacciones isodésmicas en la formación de Isómeros de cloronitrobenceno y la aplicación de Métodos como PM3, MP2 y B3LYP que se encuentran en Gaussian 03, permitieron calcular las entalpías estándar de formación a 298 K en estas moléculas. Los valores calculados presentan una buena concordancia con los datos experimentales, encontrándose que el método que mejor reproduce las Entalpías de Formación de estos Isómeros es el PM3. Además, aplicando la función Potencial de Morse a datos de Energía Potencial en función de la longitud de enlace se determinó la energía de Disociación del enlace C-Cl, presente en los distintos Isómeros. Los resultados confirman que las moléculas 3-cloronitrobenceno y 4-cloronitrobenceno son las más estables.

KEYWORDS Isodesmic reaction, enthalpies of formation, bond dissociation energy, benzene

PALABRAS CLAVE Reacción isodésmica, entalpías de formación, energía de disociación de enlace, benceno

INTRODUCCIÓN

Los isómeros de cloronitrobenceno han sido ampliamente usados como intermediarios en la manufactura de agentes antioxidantes, aditivos en la gasolina, agentes farmacéuticos, agentes industriales, etc (Li, Minami, Hanaoka, & Yamamura, 1999; MacLeod & Mackay, 1999; Priva & Madras, 2006). La producción promedio en China de 4-cloronitrobenceno [4CINB], en 2003 y 2004, fue de aproximadamente 250,000 toneladas/año (Shen et al., 2008).

La mayoría de los compuestos aromáticos que contienen nitrógeno y/o cloro son tóxicos y resistentes a la biodegradación, lo que conlleva un fuerte impacto ambiental (Wu, Jiang, Wang, Ma & Liu, 2006; Li, Chen & Du, 2007; Li, Kang, Ding, Lü & Fang, 2008).

El presente trabajo intenta hacer una contribución en el estudio teórico de propiedades termoquímicas de isómeros de cloronitrobenceno [CINB] en fase gaseosa, ya que la información tanto experimental como teórica de calores de formación es muy variada y depende de los métodos utilizados como se muestra en el apéndice.

MATERIALES Y MÉTODOS

Determinación de Cambios de Entalpía Estándar de Formación en fase Gas. Para determinar el calor de formación de los distintos isómeros de cloronitrobenceno se utilizó el siguiente esquema de reacción (figura 1), basado en el conocido concepto de reacciones isodésmicas (Foresman & Frish, 1993).

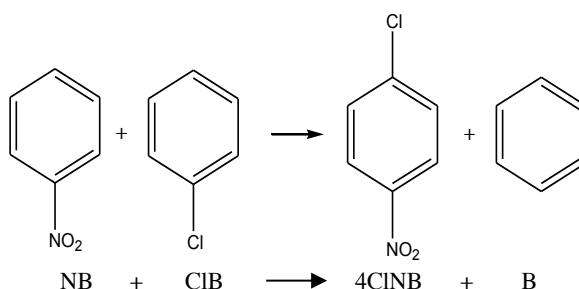


Figura 1: Esquema de reacción isodésmica para isómeros de CINB.

El cambio de Entalpía Estándar de Reacción para el esquema mostrado en la figura 1 se puede definir como:

$$\Delta H_r^0 = \Delta H_{f,4CINB}^0 + \Delta H_{f,B}^0 - [\Delta H_{f,NB}^0 + \Delta H_{f,CIB}^0]$$

[1] donde ΔH_f^0 es el calor de formación de los distintos componentes presentes en la reacción y ΔH_r^0 es el cambio de entalpía de la reacción a 298.15 K.

Por otra parte, cálculos teóricos del cambio de la Entalpía Estándar de Reacción, se pueden obtener utilizando el software computacional Gaussian, siguiendo los procedimientos propuestos en los manuales de este software (Foresman & Frish, 1993):

$$\Delta H_r^0 = H_{4CINB} + H_B - [H_{NB} + H_{CIB}] \quad [2]$$

donde,

$$H_i = U_i^0 + f^{dH}$$

siendo U^0 la energía electrónica y f^{dH} el factor de corrección térmico en la entalpía. Al igualar ecuaciones [1] y [2], se obtiene el calor de formación, en este caso, del 4CINB.

A continuación se presenta una tabla de datos experimentales que incluye todas las moléculas consideradas en este estudio:

Tabla1. Entalpías Estándar de Formación Experimentales [1].

Molécula	$\Delta H_f^0 [kJ/mol]$
2CloroNitroBenceno [2CINB]	62.2
3CloroNitroBenceno [3CINB]	40.1
4CloroNitroBenceno [4CINB]	39.7
NitroBenceno [NB]	67.5
CloroBenceno [CIB]	52.9
Benceno [B]	82.6

Cálculo de Energía de Disociación de Enlace, constante de Fuerza y frecuencia de Vibración Fundamental.

Las curvas de energía potencial en función de la longitud de enlace, en el caso de dos átomos vecinos, se puede seguir a través de la función potencial de Morse teniendo la forma siguiente (Engel & Reid, 2005):

$$E_p = D_e [1.0 - e^{-\beta[L-L_e]}]^2 \quad [3]$$

donde E_p es la energía potencial, D_e es la energía de disociación

de enlace, β es un parámetro, L es la longitud de enlace y L_e es la longitud de enlace en el equilibrio o en la posición de mínima de energía.

Relaciones entre los parámetros D_e , β y v_0 [número de onda fundamental] se presentan a continuación:

$$k = 2D_e \beta^2 \quad [4]$$

donde k es la constante de fuerza del enlace correspondiente. El número de onda fundamental viene dado por ecuación:

$$v_0 = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad [5]$$

siendo c la velocidad de la luz y μ la masa reducida. Además, se usarán 3 descriptores, físicos y termodinámicos, para intentar relacionarlos con los resultados que se obtuvieron:

1. Momento dipolar que se define como:

$$p = qL \quad [6]$$

donde p es el momento dipolar, q es carga del dipolo y L es la longitud de enlace.

2. Parámetro z que toma la forma:

$$z = \frac{D_e}{\beta L_e} \quad [7]$$

donde Z es un parámetro que tiene unidades de energía.

3. Descriptor πID representado por la ecuación:

$$\pi ID = A + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^A (p_i^w - 1) \quad [8]$$

donde πID (Golmohammadi, Konoz & Dashtbozorgi, 2009) es un número relacionado con los órdenes de enlace múltiples.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de Cambios de Entalpía Estándar de Formación de Isómeros de CINB. Utilizando el método semiempírico PM3 de Gaussian y realizando el trabajo de Opt + Freq, se

obtuvieron los siguientes resultados para H_i expresada en unidades de energía en Hartree [Ha] y que están presentados en tabla 2.

Tabla 2. Valores Computacionales de la suma de la entalpía electrónica y térmica.

Molécula	$H_i[Ha]$
2CINB	0.120888
3CINB	0.116771
4CINB	0.115981
NB	0.133673
CIB	0.122707
B	0.141489

Reemplazando los valores de tablas [1] y [2] en ecuaciones [1] y [2] se obtienen los cambios de entalpía estándar para las distintas reacciones isodésmicas que están relacionadas con la formación de los isómeros de cloronitrobenceno, que se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Calores Estándar de Reacción [ΔH_r] para isómeros de cloronitrobenceno.

Reacción	$\Delta H_r[kcal/mol]$
$NB + CB \rightarrow 2CINB + B$	3.763118
$NB + CB \rightarrow 2CINB + B$	1.179951
$NB + CB \rightarrow 2CINB + B$	0.683975

De la tabla 4 que se presenta a continuación se observa que el calor de formación de 2CINB se aleja muchísimo del valor experimental. Los otros valores son aceptables, dentro del error que corresponde.

Tabla 4. Comparación de calores de formación experimentales y calculados.

Molécula	$\Delta H_{f,calc}^0[kJ/mol]$	$\Delta H_{f,exp}^0[kJ/mol]$
2CINB	53.55	62.2
3CINB	42.74	40.1
4CINB	40.66	39.7

Estudios cristalográficos indican que 2CINB no es una molécula plana. A continuación se presenta un procedimiento para la modificación del ángulo diedro [Figura 2] en el cálculo de Entalpía Estándar de Formación en Gaussian cuyos resultados se muestran en la Tabla 5.

Haciendo un gráfico de tabla [5], se obtiene un valor óptimo para

un ángulo diedro que corresponde al valor experimental del calor de formación de 2CINB. Reemplazando el calor de formación experimental de 2CINB [62.2] en la ecuación polinomial de grado 2, que se muestra en el gráfico (figura 3), se obtiene un ángulo dihedral α de 163.2 [°].

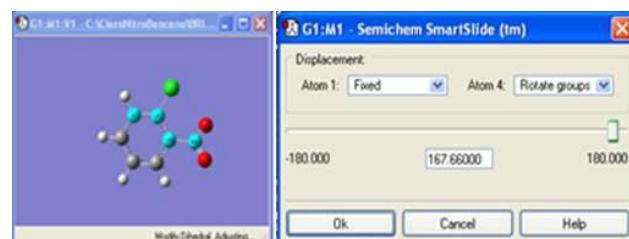


Figura 2: Modificación de ángulo diedro [α].

Tabla 5. Calores de formación para distintos ángulos dihedros.

$\alpha [{}^\circ]$	$H_i[Ha]$	$\Delta H_{f,calc}^0[kJ/mol]$
172.15	0.121567	55.3
169.9	0.122072	56.7
167.7	0.122722	58.4
165.4	0.123511	60.4
162.1	0.124969	64.3

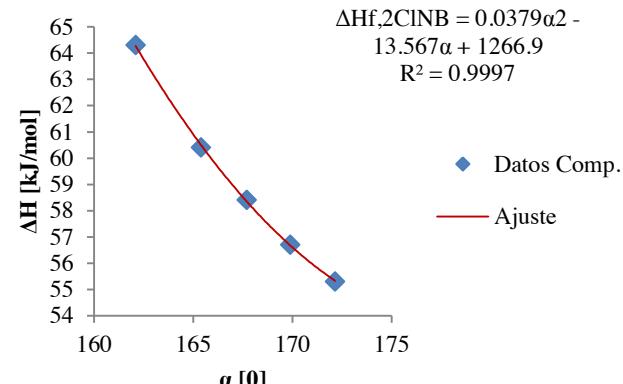


Figura 3: Variación del calor de formación de 2CINB con el ángulo dihedron. Ajuste de datos de calor de formación en función de ángulo dihedro mediante ecuación: $\Delta H_{f,2CINB} = 0.0379\alpha^2 - 3.567\alpha + 266.9$.

Cálculo de Energías de Disociación de Enlace, Constantes de Fuerza y Frecuencias de Vibración Fundamental. Utilizando Método PM3 y haciendo un Scan para enlace C-Cl se obtienen resultados típicos que se muestran en la tabla 6.

Los datos computacionales anteriores fueron tratados mediante

un método de ajuste de mínimos cuadrados cuyos resultados se presentan en figura 5 y tabla 7 (Graph Pad Prism 4, Windows).

Tabla 6. Resultados obtenidos utilizando el método PM3.

Summary of the potential surface scan:		
N	B13	SCF
1	1.2000	0.35998
2	1.3000	0.21361
3	1.4000	0.13420
4	1.5000	0.09648
5	1.6000	0.08202
6	1.7000	0.07970
7	1.8000	0.08408
8	1.9000	0.09308
9	2.0000	0.10592
10	2.1000	0.12192
11	2.2000	0.14008
12	2.3000	0.15921
13	2.4000	0.17824
14	2.5000	0.19636
15	2.6000	0.21308
16	2.7000	0.22819
17	2.8000	0.24163
18	2.9000	0.25345
19	3.0000	0.26377
20	3.1000	0.27272
21	3.2000	0.28045
22	3.3000	0.28711
23	3.4000	0.29284
24	3.5000	0.29779
25	3.6000	0.30207
26	3.7000	0.30580

Los resultados de la tabla anterior se presentan mediante un gráfico en la figura 4.

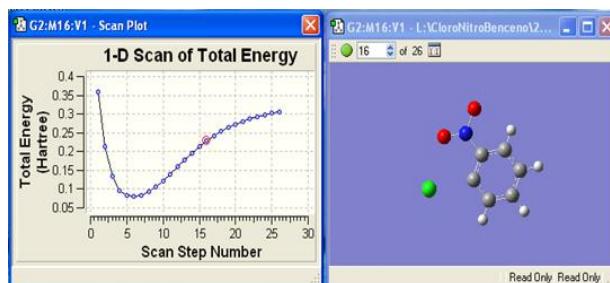


Figura 4: Scan de Enlace C-Cl utilizando método PM3.

De los datos obtenidos en tabla 7 se calculan constantes de fuerza y frecuencias fundamentales a partir de ecuaciones [4] y [5] y que se muestran en tabla 7.

Tabla 7. Parámetros de Función Potencial de Morse.

Molécula	$D_e [kJ/mol]$	$\beta [\text{Å}^{-1}]$	$L_e [\text{\AA}]$
2CINB	604.9	1.711	1.508
3CINB	655.6	1.749	1.458
4CINB	656.8	1.749	1.458

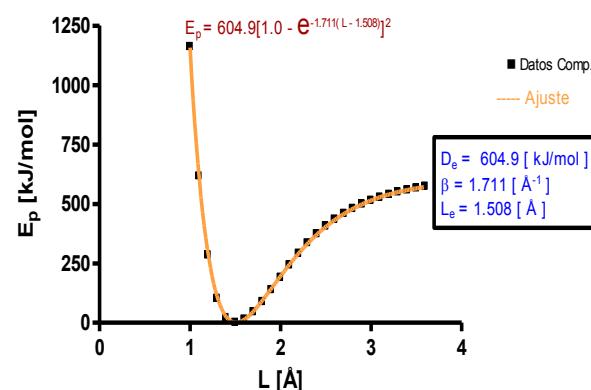


Figura 5: Energía potencial de 2cloronitrobenceno utilizando el método PM3. Función Potencial de Morse ajustada a datos computacionales obtenidos para el enlace C-Cl en 2CINB.

Tabla 8. Constantes de Fuerza y número de onda calculados a partir de la Función Potencial de Morse

Molécula	$k [N/m]$	$v_0 [cm^{-1}]$
2CINB	588.3	1054.5
3CINB	666.3	1122.1
4CINB	667.5	1123.1

Por otro parte, desde Gaussian se realizó un experimento computacional con el objeto de tener el espectro de infrarrojo de 2CINB y obtener el número de onda fundamental, ambos presentados en figura 6 y figura 7.

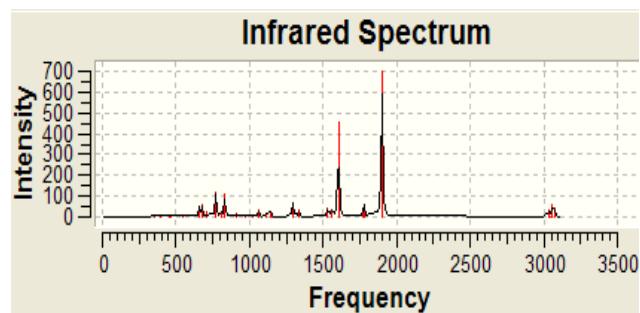
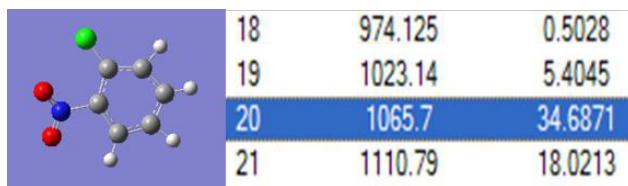


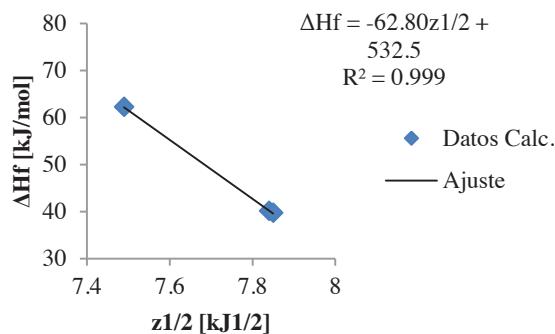
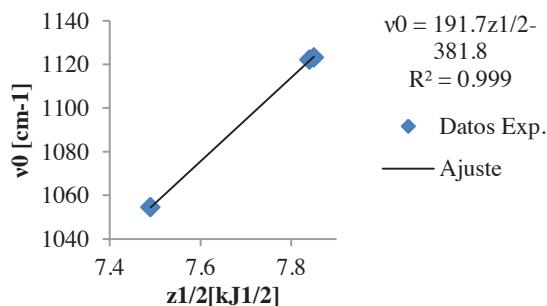
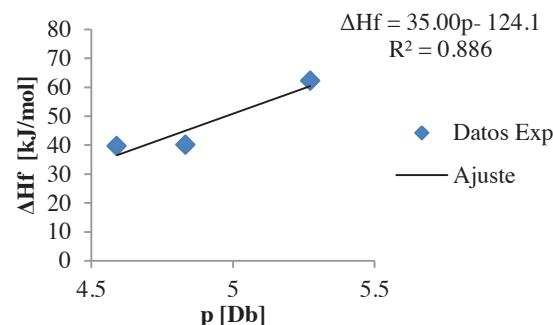
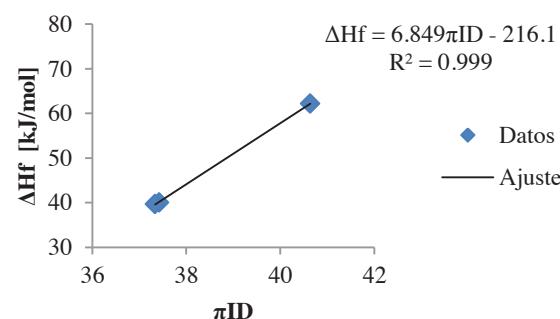
Figura 6: Espectro Infrarrojo de 2CINB.

**Figura 7:** Número de onda de 2ClNB.**Relaciones de las propiedades termoquímicas con algunos descriptores de interés.**

Se utilizó HyperChem, Re 8.0.2 for Windows (2007) con el objeto de optimizar las moléculas y Dragon Professional version (2006) para calcular el πID de cada Isómero, datos presentados en la tabla 9.

Tabla 9. Descriptores físicos y termodinámicos.

Molécula	$z^{1/2} [kJ^{1/2}]$	p [Db]	πID
2ClNB	7.49	5.2728	40.635
3ClNB	7.84	4.8325	37.425
4ClNB	7.85	4.5894	37.335

**Figura 8:** Variación del calor de formación con z. Ajuste lineal ΔH_f^0 con $z^{1/2}$.**Figura 9:** Variación del número de Onda con z Ajuste lineal para número de onda en función de $z^{1/2}$.**Figura 10:** Efecto del Momento Dipolar. Ajuste de Calor de Formación Estándar en función de p.**Figura 11:** Efecto del Orden de Enlace πID . Ajuste lineal de ΔH_f^0 con descriptor πID .

En las figuras 8-12 se presentan relaciones empíricas de tanto el calor de formación como el número de onda en función de los descriptores anteriores, encontrándose una correlación aceptable, no así en el efecto del momento dipolar en el calor de formación estándar.

CONCLUSIÓN

El cálculo de las entalpías estandar de formación mediante el método de reacciones isodésmicas y el proceso de cálculos teóricos a través de PM3, método que se encuentra disponible en software de Gaussian, permitieron encontrar resultados aceptables para las moléculas estudiadas.

A través de la modificación del ángulo dihedral, se obtuvo una relación empírica de la variación del calor de formación, cuya expresión contiene una función polinomial para 2ClNB.

La ecuación [3] de Potencial de Morse se ajusta muy bien a los datos computacionales obtenidos a través de Gaussian y permite obtener resultados aceptables para el número de onda.

Finalmente, los descriptores utilizados muestran buenas correlaciones para tanto la entalpía de formación estandar como el número de onda fundamental.

AGRADECIMIENTOS

La investigación presentada en este trabajo se desarrolló gracias al apoyo de la Universidad Interamericana de Puerto Rico.

REFERENCIAS

Engel, T., & Reid, P. (2005). *Physical Chemistry*. Pearson, FirstEdition, 409.

Foresman, J.B., & Frish, A.E. (1993). *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*. Second Edition, Gaussian, Inc.

Golmohammadi, H., Konoz, E., Dashtbozorgi, E. (2009). Prediction of gas-to-olive oil partition coefficients of organic compounds using an artificial neural network. *Analytical Sciences*, 25, 1137-1142

Graph Pad Prism 4 for Windows. (2003). *GraphPad Software,Inc.* www.graphpad.com

HyperChem, Re 8.0.2 for Windows. (2007). *Hypercube,Inc.*

Li, H., Kang, J., Ding, L., Lü, F., & Fang, Y. (2008). A dansyl-based fluorescent film: Preparation and sensitive detection of nitroaromatics in aqueous phase. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 197, 226-231.

Li, Q., Minami, M., Hanaoka, T., & Yamamura, Y. (1999). Acute immunotoxicity of p-chloronitrobenzene in mice: II. Effect of p-chloronitrobenzene on the immunophenotype of murine splenocytes determined by flow cytometry. *Toxicology*, 137, 35-45.

Li, X., Chen, J., Du, L. (2007). Analysis of chloro- and nitrobenzenes in water by a simple polyaniline-based solid-phase microextraction coupled with gas chromatography. *Journal of Chromatography*, 1140, 21-28

MacLeod, M. & Mackay, D. (1999). An assessment of the environmental fate and exposure of benzene and the chlorobenzenes in Canada. *Chemosphere*, 38, 1777-1796.

Priya, M. H., Madras, G. (2006). Photocatalytic degradation of nitrobenzenes with combustion synthesized nano-TiO₂. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 178, 1-7.

Ribeiro da Silva, M. A. V., Lobo Ferreira, A.I.M.C., & Moreno, A.R.G. (2009). Experimental thermochemical study of the monochloronitrobenzene isomers. *Journal of Chemical Thermodynamics*, 41, 109-114.

Shen, J., Chen, Z., Xu, Z., Li, X., Xu, B., Qi, F. (2008). *Journal of Hazardous Materials*, 152, 1325-1331.

Talete srl DRAGON Professional version 5.4-2006, <http://www.talete.mi.it>

Wu, J., Jiang, C., Wang, B., Ma, Y., & Liu, Z. (2006). Novel Partial Reductive Pathway for 4-Chloronitrobenzene and Nitrobenzene Degradation in *Comamonas* sp. Strain CNB-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 1759-1765.

APÉNDICE

Tabla 9. Cálculo de calores de formación mediante métodos B3LYP para 2CINB.

Molécula	B3LYP6311+ [Ha]	B3LYP6311 [Ha]	B3LYP(63-1-G)[Ha]
NB	-436.63	-436.62	-436.51
CIB	-691.76	-691.76	-691.68
2CINB	-896.23	-896.22	-896.07
B	-234.14	-232.14	-232.09
$\Delta H_f \left[\frac{kJ}{mol} \right]$	79.43	84.52	81.6

AUTOR/AUTHOR

Víctor D. Vásquez Moll. Posee el rango de Catedrático en el Departamento de Ciencias y Tecnología de la Universidad Interamericana, Recinto de Arecibo. Es Doctor en Ciencias Químicas con especialidad en Química Física y Electroquímica e Ingeniero Civil Metalúrgico graduado de la Universidad Nacional del Plata, Argentina y autor del libro de texto “Matemática y Visual Basic para Químicos y Físicos”. Puede ser contactado a través del correo electrónico: dvasquez@arecibo.inter.edu

Professor in the Science and Technology Department of the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Graduated from the National University of La Plata in Argentina with a doctorate in Chemical Sciences with a specialization in Physical Chemistry and Electrochemistry, and as a Metallurgical Engineer. Author of *Matemática y Visual Basic para Químicos y Físicos*. May be contacted via email: dvasquez@arecibo.inter.edu

***Toxoplasma gondii*: manipulation of rodents' behavior and the involvement in human schizophrenia**

***Toxoplasma gondii*: manipulación del comportamiento de los roedores y su rol en la esquizofrenia humana**

Ortiz Maldonado, J. R.

Technical Certificate Program, Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is a parasite that have been identified as the etiological agent of toxoplasmosis, a condition that can cause several damage to the fetus in pregnant women and to immunocompromised patients, can cause encephalitis and cornea necrosis. It has been found that this parasite has an intriguing behavioral science, since it can manipulate rodents into losing their natural aversion to the odor of cat's urine, leaving intact other fear behavioral mechanisms. Moreover, today there is compelling evidence relating *T. gondii* to human schizophrenia, as it has been found that a large number of patients with toxoplasmosis show schizophrenia-like symptoms and also the relation between specific infected areas of the brain and *T. gondii*'s production of an enzyme, which is a homolog of the human tyrosine hydroxylase which regulates dopamine.

RESUMEN

Toxoplasma gondii es un parásito que causa toxoplasmosis: una condición que puede afectar fetos y pacientes immunocomprometidos causando encefalitis y necrosis córnea. Se ha observado que este parásito puede manipular el comportamiento de los roedores, cambiando su aversión o disgusto por el olor de la orina de los gatos y manteniendo intactos otros aspectos del comportamiento. Existe evidencia que relaciona a *T. gondii* con la esquizofrenia humana. Un alto número de pacientes con toxoplasmosis exhiben síntomas parecidos a los de esquizofrenia. Se ha encontrado también que en las regiones del cerebro infectadas por el parásito se observa la presencia de una enzima que es homóloga a la tirosina hidroxilasa humana que se encarga de regular dopamina.

KEYWORDS Parasite, toxoplasmosis, schizophrenia, dopamine

PALABRAS CLAVE Parásito, toxoplasmosis, esquizofrenia, dopamina

INTRODUCTION

Parasitism is a well-known phenomenon in the living world. Simple examples such as virus or bacteria are common for the nonscientific public. Such is the case of influenza or HIV virus that use mammal cells to reproduce, eventually killing the host cell spreading through the immune system. Other less common case is the rabies virus of the genus *Lyssavirus*, which infects the host through its immune system promoting the inflammatory response, causing brain damage, making the host violent, which is one of the (McKay & Wallis, 2005). This behavioral change makes it easier for the virus to pass to another host, continuing its reproduction and survival. This type of behavioral change in the host of the example above is mainly attributed to the brain damage of the host immune system and the parasite pathology, not a specific parasitic mechanism for such behavioral change. This is not the case of other organisms, like the fungi *Ophiocordiceps unilateralis*, a parasite which shows a more specific behavioral change in its host, the ant *Camponotus leonardi* (Hughes et al., 2011). *O. unilateralis* infects the ants'

central nervous system, causing the ant to convulse, making them fall from its natural habitat, which is high above the tree. Once on the floor, they walk to the central vein of a leaf, and die biting it, in what is called the death grip. An intriguing case is the one of *Toxoplasma gondii*. It is a protozoan that manipulates the behavior of its host, a rodent, and possibly can have the same effect in humans. The objective of this paper is to give an overview of organism's life cycle, reproduction and survival and its implication in some pathologies, like toxoplasmosis and schizophrenia.

Parasite and toxoplasmosis overview *Toxoplasma gondii* is a parasite that lives and reproduces in hot blooded mammals, having as its definite host the domestic cat. *T. gondii* is a unicellular organism, grouped phylogenetically as a protozoan. This organism reproduces sexually and asexually. Once *T. gondii* is ingested in its motile form, the tachyzoites, the asexual phase of its reproduction takes place mostly in hot blooded animals

such as dogs, cows, rats, cats and humans (Tenter, Heckeroth, & Weiss, 2000; Vyas, Kim, Giacomina, Boothroyd, & Sapsolsky, 2007; House, Vyas, & Sapsolsky, 2011). Once inside the host, the tachyzoites infect cells and form a vacuole; it is in the vacuole where the parasite eventually takes the undetectable form (undetected by the immune system) and proliferates in muscle and nervous tissue. Once the infected cell bursts, releases the tachyzoites, and the parasite spreads to other tissues. While the parasite is in the tachyzoites phase of its life cycle, the response of the immune system is very effective containing its dispersion; but infected macrophages by *T. gondii* trachyzoites prevent the nuclear translocation of transcription factor NF- κ B, inhibiting proinflamatory cytoquines, for that reason toxoplasmosis is latent in most hot blooded mammals (Khan et al., 2000; Butcher, Kim, Johnson, & Denkers, 2010).

Cats are the primary predator of rodents. This fact makes the rodent a perfect host for the parasite, helping it to get to its final and definite host. With this in mind, the manipulation theory of this parasite over hot blooded mammals under selective pressure to amplify the survival rate seems plausible. One third of the world's population has toxoplasmosis, the pathology caused by *T. gondii*. Oral ingestion is the most common way of infection, but in humans it can be transmitted through infected uncooked meat from cattle or the management of feline feces. It is recommended for pregnant women not to interact with cats, or cat sand boxes because the exposure can lead to infection of *T. gondii* which can cause abortion, pass the placenta and cause hydro or microcephaly, intracranial calcification, deafness, seizures, cerebral palsy, retinal damage, mental retardation and other lethal damage to the fetus (Graham, Hay, Hutchison, & Sim, 2005). Toxoplasmosis has also been associated with schizophrenia due to the capacity of *T. gondii* to alter dopamine levels, associated with this mental illness (Torrey, & Yolken, 2003; Flegr, 2007; Vyas, & Sapsolsky, 2010; Webster, & McConkey, 2010).

Secondary host localization preference. Introduction of *T. gondii* into the host is normally through ingestion of infected food, water or infected animal contact (Hill, & Dubey, 2002). The sexual reproduction of *T. gondii* on its primary host is located in the digestive system; in the secondary host it prefers areas like, muscle tissue and the nervous system. Infection of *T. gondii* cysts spreads widely over the brain, being of great interest the olfactory bulbs, the amygdala and the nucleus accumbens (Vyas et al., 2007; Webster, & McConkey, 2010; House et al., 2011). These areas are related, with innate aversion, fear, reward, memory and are related to the behavioral changes in the secondary host (House et al., 2011). Vyas and colleagues (Vyas et al., 2007) used infected rats with luminescent labeled cysts to demonstrate that as time progressed the parasites migrated from the intestines to the brain; from the acute to chronic phase in one month. The infection did not show any discomfort or behavioral change other than that in the cat odor aversion.

The olfactory bulbs are brain areas related with the interpretation of olfactory senses. Some areas have been related to innate fear, which in some species prevents predation upon their species, while other are areas related to the development of new information regarding fear or reward of odor perception (Vyas et al., 2007; House et al., 2011). The amygdala is related mostly with fear and the stress related response to it, and the aversive memory, as well as other memory consolidation mechanisms, and the nucleus accumbens is involved in fear, reward and pleasure, things that seem to switch roles in the rodent phenotype cause by the *T. gondii* infection (Webster, & McConkey, 2010).

Manipulation of rodent behavior. As mentioned before, cats are the primary predator of rodents, but the last have a natural aversion to the odor of cat's urine, making this, an probable mechanism to avoid been predated (Apfelbach, Blanchard, Blanchard, Hayesd, & McGregor, 2005; Lind, & Cresswell, 2005). Experimental data suggests (Vyas et al., 2007) that the manipulation of this aversion, turns into a fatal attraction which facilitates the parasite transmission to the intestine of the cat, which is the preferred environment for its sexual reproduction. In experiments, infected and uninfected rodents were exposed to a variety of urine odors from different *T. gondii* secondary hosts and from cats. Uninfected rodents avoided areas where there was cat urine, but also other host urine odors as well. In the case of infected rodents they did not show high degree of aversion, instead kept going to the same place where cat's urine was placed (Vyas et al., 2007). Moreover it was shown that fear was intact in both control and experimental groups in fear induce stimuli, showing the specificity of the behavioral changes in fear interpretation, blocking a specific fear and leaving other ones intact (Vyas et al., 2007).

Sexual arousal in male rodents and olfactory changes. It has been shown that the odor of cat's urine activates sexual arousal on *T. gondii* infected rodents (House et al., 2011) possibly inducing a sexual reward upon cat urine exposure. The fact that the olfactory sense is essential in the identification of the odor of cat's urine, and its eventual avoidance, is probably one of the mechanisms that *T. gondii* uses to manipulate and control its host. As mentioned before, *T. gondii* has a preference for the brain's limbic system, which is an area that regulates sexual and predation stimuli (House et al., 2011). In the evolution process, reproduction and survival define the survival of the species, so in response to this evolutionary pressure, the pathways of reproduction and predation run directly from the olfactory bulbs to the limbic system, maybe helping the organism to avoid danger or finding a mating partner (Kavaliersa, Chorelisa, & Colwell, 2001; House et al., 2011).

A study done by House (House et al., 2011) showed how through the activity of certain areas of the limbic system of infected and uninfected rats there were significant differences in how these two regions practically interchange their roles in the adaptive

survival and reproductive behavior. Non-infected rats showed an increase in the activity of the ventromedial hypothalamus (VMHdm), this related to a defensive behavior after exposure to cat's urine. Exposure to female rats showed an increase in activity in the poster dorsal medial amygdala (MEAdp), showing an approach behavior upon female rodents. In contrast, infected rats with *T. gondii* showed increase activity in the MEAdp, which is consistent with an approach behavior and the preference for cat's urine. In the case of exposure to female rats, they showed an increase in the activity of VMHdm with avoidance or lack of interest upon the females. Using these results as a reference, it is possible that *T. gondii* in order to be passed down to its final host (the cat) manipulates the rodent, so it will react to cat's urine as if it were a female in the arousal process, exciting it. This event exposes the rodent to the cat increasing the probability of its predation, making the ultimate phenotypic expression of *T. gondii* and the eventual behavior manipulation for its reproduction benefit.

Links to schizophrenia. Schizophrenia is a debilitating mental illness characterized for a variety of manifestations that are divided in positive and negative symptoms. Positive symptoms include delusions, hallucinations and thought abnormalities, whereas, negative symptoms include reduced interest and motivation, emotions and social interrelations (Murray, 2008). Impairment in memory, learning, attention and information processing can be part of the overall diagnosis. These symptoms often result in behavioral disorganization, making living quite difficult for the patient and its family. It has been shown that a patient with schizophrenia has a life expectancy of less than 12 to 20 years when compared to general population (Faludi, Dome, & Lazary, 2011).

Genetic factors are an important aspect to consider when studying schizophrenia. So far, there is lack of information that could relate schizophrenia to a specific gene responsible for this mental illness. Recent studies with single nucleotide polymorphisms (SNP) (Faludi et al., 2011) have established a possible connection of the disease with chromosomes 21 and 23. Prenatal factors such as infections, hypoxia and malnutrition increase the risk of schizophrenia, as well as postnatal factors like social status, family dysfunctionality, stress and drugs (Faludi et al., 2011).

Dopamine, norepinephrine and serotonin are neurotransmitters that have been associated with schizophrenia. Dopamine is related to reward-driven learning which helps us to determine which things are positive for our survival, such as food, sex, and general pleasure reward feelings (Berridge, & Kringelbach, 2008). Drugs like cocaine and amphetamines alter the levels of dopamine, which tends to change behavioral patterns, and perception. Recent studies propose that the deregulation of dopamine in the brain has different effects. Hyperdopaminergic activity in the striatum area is related to positive symptoms,

while negative symptoms have been related to hypodopaminergic activity in the thalamus area, which is related to sensory abnormalities (Murray, 2009; Faludi et al., 2011).

Interestingly *T. gondii* have been related to this mental illness in humans. Since 1953 there have been numerous studies trying to correlate toxoplasmosis and schizophrenia. Measurement of a *T. gondii* antibody (Torrey, & Yolken, 2003) in schizophrenic patients was the first correlation between this parasite and this mental illness. Some cases of acute toxoplasmosis in adults have been associated with delusions and hallucinations consistent with this psychiatric disorder (Torrey, & Yolken, 2003). As mention before, *T. gondii* has a preference to the regional brain in the limbic system, associated with dopamine regulation of fear and reward-driven learning. Impairment of dopamine pathways by *T. gondii* can result in the development of some forms of schizophrenia. The patients mentioned before, where tested for behavioral changes, based on different personality and behavioral tests, according to the Diagnostics and Statistical Manual of Mental Disorders or the International Classification of Diseases (Flegr, 2007; Faludi et al., 2011). A detailed description of the symptoms and diagnostic methods should be implemented in order to determine the influence of *T. gondii* in some of the symptoms of schizophrenia, that way, the relation of toxoplasmosis and this mental illness can be established.

Dopamine regulation, schizophrenia and *T. gondii*. Rodents exposed to cat's urine odor show changes in the level of neurotransmitters norepinephrine and dopamine, but not in serotonin. Serotonin regulates mood and even thou it has been related with schizophrenia, in *T. gondii* infected rodents, the levels were not altered (Stibbs, 1985; Prandovszky et al., 2011). Norepinephrine, on the other hand, is related to stress and alert, and was reduced by a 28% in acute but not chronic rodents. In the case of dopamine levels, they were normal in the acutely infected rodents but had a 14 % increase in chronic infected ones. Altered levels of dopamine have been related to schizophrenia (Webster, & McConkey, 2010). Specifically, the hyperdopaminergic activity in the mesolimbic system, which is associated with altered novelty seeking behavior, and in the striatum, related with the negative symptoms of schizophrenia (reduce interaction and motivation, emotion and social interaction).

So, what does *T. gondii* have to do with dopamine levels in those regions? Recently, genetic analysis of *T. gondii* has shown that the parasite encodes a gene with high homology to the mammalian TH gen, which encodes the enzyme tyrosine hydroxylase (Gaskell, Smith, Pinney, Westhead, & McConkey, 2009). This enzyme has the capability to synthesize L-DOPA and tyrosine, precursors of dopamine and norepinephrine, and it is secreted constitutively (Gaskell et al., 2009; Prandovszky et al., 2011). Since there is an increase in dopamine levels in patients with schizophrenia, and there is an enzyme produced by *T.*

gondii that resembles tyrosine hydroxylase, is reasonable to assume the influence of this enzyme in the increase in dopamine production and the consequent presentation of schizophrenia-like symptoms in patients infected with the parasite.

Possible mechanism for host manipulation. There are various hypothesis on the mechanisms in which *T. gondii* may exert the change in behavior of its host. Since *T. gondii* is a pathogen, the activation of macrophages and dendritic cells that phagocytize it allows its passage to the brain (Vyas, & Sapolksy, 2010, Webster, & McConkey, 2010). The constant battle against *T. gondii* causes the release of cytokines such as interleukins 1, 2 and 6 that engaged in the inflammatory response which can alter dopamine (Novotna et al., 2005). Studies have shown that inflammatory cytokines can lead to necrotic material deposition, causing vascular blockage and finally sclerosis, in response to the tachyzoites (Khan et al., 2000).

Although *T. gondii* distributes throughout all the brain, there is preference to certain areas like the olfactory bulbs, the amygdala and nucleus accumbens. In the olfactory bulbs, there is an apparent specificity towards the change in odor perception (Vyas et al., 2007; House et al., 2011). It is known that each glomerulus is related to receptor for specific odors. The odor of urine from felines changes from unpleasant to pleasant in rodents and humans (Flegr, Lenochová, Hodny, & Vandrová, 2011, House et al., 2011). In a study using with humans with and without *T. gondii* infection, they were exposed to urine odors from different animals. Results showed that the infected humans had a preference for the odor of cat's urine, rating it as the most pleasant odor of all (Flegr et al., 2011). This result shows the specificity of the parasite to this odor and its role in the fatal attraction phenomenon.

Evolution aspects of *T. gondii*. *T. gondii* has evolved to avoid extinction; it has developed the ability to manipulate its host in order to achieve the ultimate goal of getting to the feline's intestine for its sexual reproduction. So, the question is, why not evolve in a way that the parasite could reproduce sexually in any other intestine and expand the variety of hosts? Maybe the conditions that favor the current adaptation were more suitable for the environmental pressure exerted over this organism or maybe there were similar species that evolved to adapt to other tissues for sexual reproduction and got extinguished.

Since bigger felines, like leopards, are primary hosts of *T. gondii*, it is speculated that in the past human infection and manipulation by the parasite could have been a source of parasite dispersion (Flegr et al., 2011). This is thought due to the probability that our evolutionary ancestors could have been predated upon these felines. This notion is supported by recent studies in Africa's Ivory Coast which have shown that a large portion of leopard's diet is based on one chimpanzee and eight different monkey species (Flegr et al., 2011). Although humans

seem to be dead end hosts for *T. gondii*'s sexual spreading, because the possibility of being predated upon a domestic cat is very small, in prehistoric times this was not the case.

CONCLUSION

As the current experimental data discussed in this paper suggests, there is more to be concerned about the infectious capacity of this parasite, than the fetal and immunocompromised patient and their anatomical and mental development. The relation between toxoplasmosis and schizophrenia, established by rodent behavior, inflammation, brain damage, and the specific brain areas related to mood and behavior, and the dopamine regulation disturbance. This relation gives toxoplasmosis bearers a probability to develop schizophrenia.

Although antipsychotic drugs and antibiotics can diminish the effect of *T. gondii* on schizophrenia patients (Jones-Brando, Torrey, & Yolkena, 2003), there must be a prevention campaign to avoid infection, not just on pregnant women but also on how the water sources and uncooked meat is handled. Since one third of the world's population is infected with this parasite, and if adding the genetic and environmental disturbances, there must be a global effort to try to understand *T. gondii*'s mechanism of infection, in order to limit its dispersion. Because treatment of this disease with pharmacological methods it's good to diminish schizophrenia symptoms, development of a drug capable of eradicating the parasite it still unknown but needed, still prevention is a key factor and plays a central role in the acquisition of toxoplasmosis and the possible development of schizophrenia.

REFERENCES

- Akbarian, S. (2010). Epigenetics of Schizophrenia Behavioral Neurobiology of Schizophrenia and Its Treatment. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. 4, 611-628.
- Apfelbach R., Blanchard C. D., Blanchard R. J., Hayes R. A., & McGregore I. S. (2005). The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(8), 1123–1144.
- Berridge K. C., & Kringelbach M. L. (2008) Affective neuroscience of pleasure: reward in humans and animals. *Psychopharmacology*, 199(3), 457-480.
- Butcher B. A., Kim L., Johnson P. F., & Denkers E. Y. (2010) *Toxoplasma gondii* tachyzoites inhibit proinflammatory cytokine induction in translocation of the transcription factor infected macrophages by preventing nuclear NF-kB. *The Journal of Immunology*, 167, 2193-2201. doi:10.4049/jimmunol.167.4.2193.

- Faludi G., Dome P., & Lazary J. (2011). Origins and perspective of the schizophrenia research. *Neuropsychopharmacologia Hungarica*, 13, 185-192.
- Flegr J. (2007) Effect of *Toxoplasma* on human behavior. *Schizophrenia Bulletin*, 33, 757-760.
- Flegr J., Lenochová P. Hodny Z., & Vandrová M. (2011). Fatal attraction phenomenon in human-cat odor attractiveness increased for toxoplasma-infected men while decrease for infected women. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 5, e1389.
- Gaskell E.A., Smith J.E., Pinney J.W., Westhead D.R., & McConkey G.A. (2009). A Unique Dual Activity Amino Acid Hydroxylase in *Toxoplasma gondii*. *PLoS ONE*, 4(3), e4801. doi:10.1371/journal.pone.0004801
- Graham D. I., Hay J., Hutchison W. M., & Siim, J. (1984). Encephalitis in mice with congenital ocular toxoplasmosis. *The Journal of Pathology*, 142(4), 265–277. doi: 10.1002/path.1711420405
- Hill D., & Dubey J. P. (2002) *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection*, 8(10) 634–640. doi: 10.1046/j.1469-0691.2002.00485.x
- House P. K., Vyas A., & Sapsolsky R. (2011). Predator cat odor activate sexual arousal pathway in brain of *Toxoplasma gondii* infected rats. 6, e23277.
- Huges, D. P., Andersen S. B., Hywel-Jones N. L., Himaman W., Billen J., & Boomsma J. J. (2011). Behavioral mechanisms and morphological symptoms of zombie ants dying from fungal infection. *BMC Ecology*, 11,1472-6785.
- Jones-Brando L., Torrey E. F., & Yolken R. (2003) Drugs used in the treatment of schizophrenia and bipolar disorder inhibit the replication of *Toxoplasma gondii*. *Schizophrenia Research*, 62(3), 237–244.
- Kavalierska M., Cholerisa E., & Colwell D. D. (2001). Brief Exposure to Female Odors “Emboldens” Male Mice by Reducing Predator-Induced Behavioral and Hormonal Responses. *Hormones and Behavior*, 40(4), 497–509.
- Khan I. A., MacLean J. A., Lee F. S., Casciotti L., DeHaan E., Schwartzman J. D., & Luster A. D. (2000). IP-10 Is Critical for Effector T Cell Trafficking and Host Survival in Toxoplasma gondii Infection. *Immunity*. 12, 483–494
- Lind J., & Cresswell W. (2005) Determining the fitness consequences of antipredation behavior. *Behavioral Ecology*.16, 945–956. doi:10.1093/beheco/ari075
- McKay N., Wallis L. (2005). Rabies: a review of UK management. *Emergency Medicine Journal*, 22, 316–321. doi: 10.1136/emj.2003.013805
- Murray G. (2009) Dopamine dysfunction and delusions, hallucinations and anhedonia. *European Psychiatric Review*.
- Novotná M., Hanusová J., Klose J., Preiss M., Havlicek J., Roubalová K., & Flegr J. (2005). Probable neuroimmunological link between *Toxoplasma* and cytomegalovirus infection and personality changes in the human host. *BMC infectious diseases*. 5, 1471-2334.
- Prandovszky E, Gaskell E, Martin H, Dubey JP, Webster JP, et al. (2011). The Neurotropic Parasite *Toxoplasma Gondii* Increases Dopamine Metabolism. *PLoS ONE*, 6(9), e23866.
- Stibbs H. H. (1985). Changes in Brain Concentrations of Catecholamines and Indoleamines in *Toxoplasma gondii* Infected Mice. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 79(2), 153-157.
- Tenter A. M., Heckerth A. R., & Weiss L. M. (2001). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 3, 217-220.
- Torrey E. F., & Yolken R. H. (2003) *Toxoplasma gondii* and schizophrenia. *Emerging Infectious Diseases*, 9,11.
- Vyas A., & Sapsolsky R. (2010). Manipulation of host behavior by *Toxoplasma gondii*: What is the minimum a proposed proximate mechanism should explain? *Folia Parasitologica*, 57, 88-94.
- Vyas A., Kim S. K., Giacomini N., Boothroyd J. C., & Sapsolsky R. M. (2007) Behavioral changes induced by *Toxoplasma* infection of rodents are highly specific to aversion to cat odor. *PNAS*, 104, 6442-6447.
- Webster J. P., & McConkey G. A. (2010). *Toxoplasma gondii*-altered host behavior: clues as to mechanism of action. *Folia Parasitologica*. 57, 95-104.

AUTHOR/AUTOR

José R. Ortiz Maldonado. Part-time faculty in the Technical Certificate Program at the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Holds a B.S. in Biology and in Chemistry. Is pursuing a master's degree in Molecular Biotechnology at the Inter American University of Puerto Rico, Bayamon Campus. May be contacted via email: jortiz@arecibo.inter.edu

Es facultad a jornada parcial del Programa de Certificados Técnicos del Recinto de la Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo. Posee un B.S. en Biología y en Química. Cursa estudios conducentes a un grado de maestría en Biotecnología Molecular en el Recinto de Bayamón de la Universidad Interamericana de Puerto Rico. Puede ser contactado a través del correo electrónico: jortiz@arecibo.inter.edu

Status of the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*) after more than 40 years of its designation as an endangered species

Estado de la Boa de Puerto Rico (*Chilabothrus inornatus*) luego de 40 años de su designación como especies en peligro de extinción

Puente-Rolón A. R.

Science and Technology Department, Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus

ABSTRACT

The Global Reptile Assessment Program has so far evaluated only 6% of the world's species with emphasis on crocodiles, turtles, iguanas and tuataras. The Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*) was declared endangered in 1970 by the U.S. Fish and Wildlife Service. On this review the current available knowledge on the species as well as emerging threats for its conservation is evaluated. A total of 16 peer reviewed publications related to the Puerto Rican Boa were found and most of them were published between 2000 and 2010. Information on the effect of translocation of snakes, population and conservation genetics, road impacts, climate change and competition by established exotic snakes needs to be evaluated in order to identify new conservation measures. After more than 40 years of its protection, *C. inornatus* is still endangered and biological and ecological information is lacking.

RESUMEN

El Programa Mundial de Evaluación de Reptiles ha podido evaluar hasta el momento solamente el 6% de las especies del mundo, con énfasis en los cocodrilos, tortugas, iguanas y tuataras. La boa puertorriqueña *Chilabothrus inornatus* fue declarada en peligro de extinción en 1970 por el Servicio de Pesca y Vida Silvestre de EE.UU. En este artículo se revisa el conocimiento actual sobre la especie con el fin de identificar peligros que puedan amenazar su conservación. Un total de 16 artículos en su mayoría publicados durante los años 2000 a 2010 fueron encontrados. Información sobre el efecto de la translocación de las serpientes, aspectos de genética poblacional y de conservación, los choques o impactos en las carreteras, el cambio climático y la competencia por parte de serpientes exóticas establecidas son aspectos que deben ser evaluados con el fin de identificar nuevas medidas de conservación. Después de más de 40 años de su protección *C. inornatus* continua en peligro de extinción con muy poca información biológica y ecológica disponible.

KEYWORDS Caribbean boas, wildlife conservation, recovery plans, endangered species

PALABRAS CLAVE Indias Occidentales, conservación, vida silvestre, planes de recuperación, especies protegidas

INTRODUCTION

Reptiles along with amphibians play an essential role in the Earth's biodiversity by connecting aquatic and terrestrial ecosystems. They are an integral part of food webs through their roles as herbivores, preys and predators (Schenider et al., 2001). Worldwide, 22% percent of reptile species are endangered and 22 species are currently extirpated from the wild (Dirzo & Raven, 2003; Baillie et al., 2004).

Some of the factors that have been affecting reptiles during the past three decades are land-use changes, emerging infectious diseases, toxin releases into the environment overexploitation, introduction of exotic species, and their synergistic interaction with climate change (Dodd, 1997; Gibbons et al., 2000; Hedges,

2006; Tolson & Henderson, 1987, 2006). Reptiles are one of the terrestrial vertebrate groups least studied in the world. Even thou, declines on the population has been observed, support for research, management and conservation has been weak (Gibbons et al., 2000; Hedges 2006). Even though this group is a key component of biodiversity, it is still systematically under-represented in international conservation plans (Hedges 2006, Pawar et al., 2007). The Global Reptile Assessment Program has so far evaluated only 6% of the world's species with emphasis on crocodiles, turtles, iguanas and tuataras (IUCN, 2004). Within reptiles, snakes have received less scientific attention and there is a consensus among herpetologists that snakes may be disappearing worldwide (Mullin & Seigel, 2009).

In the West Indies, snakes are represented by 120 species distributed in 6 families and 20 genera (Tolson & Henderson, 2006) from which little is known about their status. In the Antilles, boids of the genus *Chilabothrus* are vulnerable to extirpations and extinctions (Tolson & Henderson, 2006). Today, four taxa *C. monensis monensis*, *C. monensis granti*, *C. subflavus* and *C. inornatus* are listed by the U. S. Endangered Species Act (ESA). Therefore, gathering baseline information on the life history of snakes is a fundamental element to solve questions dealing with conservation and management (Burry 2006).

Chilabothrus inornatus (Puerto Rican Boa) is among the nine large and robust species of snakes found in the West Indies (Tolson & Henderson, 1993) (Figure 1). This species was declared endangered in 1970 by the U.S. Fish and Wildlife Service (Endangered Species Act 1973). Listing under the ESA provides this species with an array of regulatory and non-regulatory benefits, including recovery plans, protection from unauthorized collecting, protection of critical habitat, scientific research, captive breeding, public education, and restoration and acquisition of habitat. In 1986 a recovery plan for the species was prepared. Recovery plans in general have been criticized as vague, unlikely to abate threats, and lacking in biological rigor (Clark et al., 2002; Lawler et al., 2002; Schultz & Gerber, 2002; Stinchcombe et al., 2002). IN some instances the criteria for determining if the species have recovered are set too low (Tear et al., 1993; Foin et al., 1998; Doremus & Pagel, 2001). For *C. inornatus*, the recovery plan includes detailed steps for the protection, recovery and removal from the endangered species list.



Figure 1. Adult Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*).

For this study the recovery plan and all the information that is required for the delisting of the species was revised. Also, the available publications, including peer review articles and thesis were evaluated. After gathering all the literature, covered

themes were identified as a source of information that can be used for the conservation of the species, including new threats. Recommendations were made for the improvement and update of the recovery plan for the species.

A total of 16 peer review publications related to the Puerto Rican Boa (PR Boa) were found. Most of the publications were made during the decade of the 2000 to 2010 (Figure 2). Available information prior to the preparation of the recovery plan consisted of studies of captive propagation (Huff, 1978, 1979; Bloxan, 1981), habitat distribution and ecology in El Yunque National Forest (formerly known as Caribbean National Forest; Reagan & Zucca, 1982; Reagan 1984) and diet (Rodríguez & Reagan, 1984). On the other hand, studies of foraging ecology (Rodríguez-Durán, 1996; Puente-Rolón & Bird-Picó, 2004), diet (Wiley 2003), and spatial requirements (Puente-Rolón and Bird-Picó, 2004; Wunderle et. al., 2004) were published after the publication of the recovery plan (see Table 1).

The recovery plan for the PR Boa includes density and distribution, population trends, habitat requirements, reproductive biology in the wild, movements and behavior, feeding ecology, intensity of non-human predation, levels of outreach and degree of human persecution as key points to be attended to allow the U.S. Fish and Wildlife Service to delist the species. Only four (density and distribution, habitat requirements, movement behavior and feeding ecology) of these key points have been addressed at some point in the available publications.

For density and distribution, Tolson (1997), studied the populations at U.S. Naval Base in Sabana Seca, Toa Baja. He did a mark recapture study and marked 22 snakes but no snakes were recaptured. Therefore, a population estimate based on mark-recapture was not possible. He modified his analysis and performed a direct count with the same data and proposed a density of 44 boas/ha. Also, he used the boas encountered per man/hour to estimate density and yielded population density of approximately 5.23 boas/ ha. Later a study on the herpetofauna community for the same area (Rios & Aide, 2007) estimated densities of 5.6 boas/ha. More studies in this area are needed. For distribution, the Puerto Rico GAP program developed a model that predicted the distribution of the species. This established the starting point for future improvement of the distribution model.

In terms of habitat requirements, the historical data, peer review papers and interviews with rangers from the Department of Environmental and Natural Resources demonstrate that the species can be found in rocky areas, xeric shrubs, plantations, caves, wet montane forest, pasturelands, remnant coastal forest, offshore cays, suburban areas and urban areas. These can be interpreted as that the species is very flexible in its requirements. The diet of the PR Boa consists mostly of rats, mice and bats.

Wiley (2003) published a study on diet of the species from data collected from road kills. On the other hand, Puente-Rolón and Bird Pico (2004) reported the foraging behavior at one cave and were able to identify at least four bat species that are a part of the diet.

Studies using radiotelemetry show that the species use small territories when their food resources are concentrated (Puente-Rolón & Bird-Pico, 2004). On the other hand, with dispersed food resources, individuals can move up to 9.1 ha. More studies on movements are required to understand in detail how these species use their habitat and its spatial ecology.

Table 1. Published literature on the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*) prior and after the publication of the Recovery Plan.

	Subject	Reference
Prior papers	Notes about Puerto Rican snakes	Pérez-Rivera & Vélez, 1978
	Captive breeding	Huff, 1978, 1979; Bloxan, 1981
	Distribution and habitat preferences at the Caribbean National Forest	Reagan & Zucca, 1982
	General ecology at Luquillo	Reagan, 1984
	Bat predation	Rodríguez & Reagan, 1984
	Bat predation, foraging ecology	Rodríguez-Durán, 1986
Later papers	Diet and reproduction condition	Wiley, 2003
	Road kill boas	Acevedo-Torres et al., 2005
	Bat predation, foraging behavior at caves, home range, movements and activity patters around a cave	Puente-Rolón & Bird-Picó, 2004
	Spatial ecology at the Caribbean National Forest	Wunderle et al., 2004
	Conservation	Tolson & Henderson, 2006
	Genetics	Joglar et al., 2007

New treats that need to be considered and incorporated in the recovery plan as soon it gets updated were identified. These new treats include the needs for the evaluation of the effect of translocation of snakes, population and conservation genetics, road impacts on the populations, climate change and competition with recently established exotic snakes. Also, it is important to develop population viability analysis for the species as well as the implementation of a landscape approach to conserve all the

types of habitats that are been use by the species. Table 2, shows all the key points previously included in the recovery plan and the ones proposed.

There is a lack of basic information on the natural history of snakes in the Caribbean, as well as in other parts of the world. This information is vital for their conservation and/or the development of conservation programs. Bury (2006) stated that knowledge of the life history leads to better experimental or theoretical questions. Recently, a Ph.D. thesis on the Puerto Rican Boa produced new information on some of the current key points (reproduction and feeding ecology) as well as for some of the proposed ones (relocation) (Puente-Rolón, 2012).

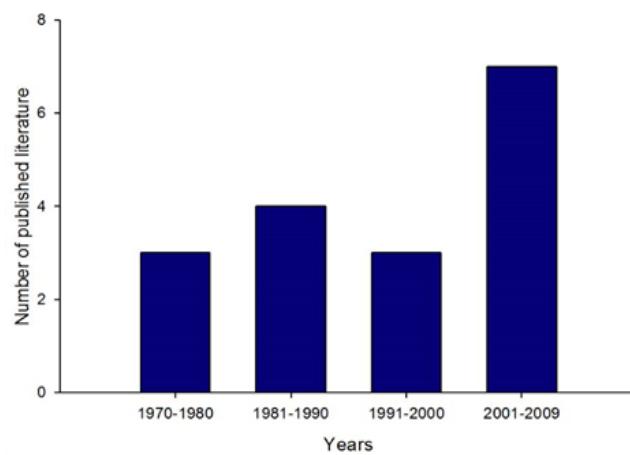


Figure 2. Number of peer reviewed published literature for the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*).

Table 2. Currently and recommended key points for the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*) Recovery Plan.

Currently on the Recovery Plan	Recommended to be included in the Recovery Plan
Density and distribution *	Effect of relocation on the species
Population trends	Population and conservation genetics
Habitat requirements *	Impacts of roads on population
Reproductive biology in the wild	Demographic information for PVA studies
Movements and behavior *	Landscape ecology
Feeding ecology *	Effect of climate change
Intensity of non-human predation per life stages	Competition with exotic snakes
Determinate degree of human persecution	
Develop education programs	

* Key points with some information available

From the gathered information, now is known that the species parturition period is between September and October and females produce in average a litter size of 18.2 ± 5.6 . On the other hand, relocation as a management tool for the species does

not seem to have an impact on the overall activity of this species. An increase in movements was observed; this is a factor that can lead to an increase in mortality. Analysis of population viability should be employed in order to produce models of extinction probability. These models would enable local and federal agencies to be more effective in making day to day decisions about the species.

It is proposed that caves have an important role in the maintenance of healthy boa populations. Ongoing studies on genetics of the species have showed that cave can have a good representation of the genetic composition of the population. Therefore the identification of more populations of snakes using caves is necessary and may be useful for developing or identifying important lands for conservation. Caves with populations of snakes should be used prioritized as habitats for conservation. Since, some cohorts of the species seem to use caves more frequently, detailed studies on the advantages the cave confers to the species, are necessary.

CONCLUSION

Although in recent years there is more information available, studies on the biology of *C. inornatus* still fragmented. The general perception of some people is that the species is very common, however, a good way to determine species density have not been established. The species seems to be in good number in some areas on the northern karst and low numbers at the Cordillera Central. More data on population is needed to be able to conclude if the species is common or not. After more than 40 years of its protection, *C. inornatus* is still an endangered species with new threats. One of the new threats for the PR Boa is the establishment of the introduced *Boa constrictor*, which is a species that can compete for food resources. Further quantitative studies are needed in order to gather a better understanding of the requirements for the management and conservation of this species in its changing environment.

REFERENCES

- Baillie, J. E. M., Hilton-Taylor, C. & Stuart, S.N. (2004). IUCN Red List of Threatened Species. A Global Species Assessment. UCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 191 pp.
- Bloxam, Q. 1981. A comparison of reproduction in three species of *Epicrates* (Serpentes, Boidae) maintained at the Jersey Wildlife Preservation Trust. *Dodo* 18: 64–74.
- Bureau of Sports Fisheries and Wildlife. (1973). Threatened wildlife of the United States. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife Resource Publications, Washington, DC.
- Bury, R. B. (2006). Natural History, Field Ecology, Conservation Biology and Wildlife Management: Time to Connect the dots. *Herpetological Conservation and Biology* 1(1): 56-61.
- Clark JA, Hoekstra JM, Boersma PD, & Kareiva, P. (2002). Improving US Endangered Species Act recovery plans: Key findings and recommendations of the SCB recovery plan project. *Conservation Biology*, 16: 1510–1519.
- Dirzo, R. & Raven, P.H. (2003). Global state of biodiversity and loss. *Annual Review of Environmental Resources*, 28:137-167.
- Dodd Jr., C. K. (1987). Status, Conservation, and Management. In Snakes Ecology and Evolutionary Biology. Seigel, R. S., Collins, J. T. and Novak, S.S. Macmillan Publishing Company, NY. USA.
- Doremus, H. & Pagel, J.E. (2001). Why listing may be forever: Perspectives on delisting under the Endangered Species Act. *Conservation Biology* 15: 1258–1268.
- Foin, T. C., Riley, A. L. Pawley, D. R. Ayres, T. M. Carlsen, P. J., Hodum, & Switzer, P.V. (1998). Improving recovery planning for threatened and endangered species. *BioScience*, 48:177–184.
- Gibbons, J. W., Scott, D. E., Ryan, T. J., Buhlmann, K. A., Tuberville, T. D., Metts, B. S., Greene, J. L., Mills, T., Leiden, Y., Poppy, S. & Winne, C.T. (2000). The global decline of reptiles, deja-vu amphibians. *Bioscience*, 50: 653–667.
- Hedges, S. B. (2006). An overview of the evolution and conservation of West Indian amphibians and reptiles. *Applied Herpetology*, 3: 281-292.
- Huff, T. A. (1978). Breeding the Puerto Rican Boa (*Epicrates inornatus*) at the Reptile Breeding Foundation. In: Olney, P.J.S. *International Zoo Yearbook*, 18: 96-97.
- Huff, T. A. (1979). Captive propagation of the subfamily Boidae with emphasis on the genus *Epicrates*. In: Murphy, J.B. & J. J. Collins. Reproductive Biology and Diseases of Captive Reptiles. SSAR Conts. Herp. No. 1.
- Lawler, J. J., Campbell, S.P., Guerry, A.D., Kolozsvary, M.B., O'Connor, R.J., & Seward, L.C.N. (2002). The scope and treatment of threats in endangered species recovery plans. *Ecological Applications*, 12:663–667.
- Mullin, S. J. & Seigel, R. A. (2009). *Snakes: ecology and conservation*. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Pawar, S., Koo, M. S., Kelley, C., Ahmed, M. F., Chaudhuri, S. & Sarkar, S. (2007). Conservation assessment and prioritization of areas in Northeast India: Priorities for amphibians and reptiles. *Biological Conservation*, 136, 346-361.

- Pérez-Rivera, R. A. & Vélez, M.J. (1978). Notas sobre algunas culebras de Puerto Rico. *Science-Ciencia*, 6, 68–73.
- Puente-Rolón, A.R., and Bird-Picó, F.J. (2004). Foraging Behavior, Home Range, Movements and Activity Patterns of *Epicrates inornatus* (Boidae) at Mata de Plátano Reserve in Arecibo, *Puerto Rico Caribbean Journal of Science*, 40(3), 343–352.
- Puente-Rolón, A.R., Reynolds, R.G., & Revell, L.J. (2013). Preliminary Genetic Analysis Supports Cave Populations as Targets for Conservation in the Endemic Endangered Puerto Rican Boa (Boidae: *Epicrates inornatus*). *PLoS ONE*, 8(5), e63899. doi:10.1371/journal.pone.0063899
- Reagan D.P., & Zucca, C.P. (1982). Inventory of the Puerto Rican Boa (*Epicrates inornatus*) in the Caribbean National Forest. CEER T-136.
- Reynolds, R.G., Puente-Rolón, A. R., Koodzaike, K., & Butler-Smith, T. (2013). Isolation and characterization of 23 novel polymorphic microsatellite markers from the endangered Puerto Rican boa (*Chilabothrus inornatus*) using paired-end Illumina shotgun sequencing. *Conservation Genetic Resources*. DOI 10.1007/s12686-013-0016-4
- Rodríguez-Duran, A. (1996). Foraging ecology of the Puerto Rican boa (*Epicrates inornatus*): Bat predation, carrion feeding, and piracy. *Journal of Herpetology*, 30, 533–536.
- Rodríguez, G., & Reagan, D.A. (1984). Bat predation by the Puerto Rican boa, *Epicrates inornatus*. *Copeia*, 219–220.
- Schenider, R. L., Krasny, M. E. & Morreale, S.J. (2001). *Hands-on herpetology: Exploring ecology and conservation*. NSTA press, Arlington, Virginia
- Schultz, C. B., & Gerber, L.R. (2002). Are recovery plans improving with practice? *Ecological Applications*, 12, 641–647.
- Stinchcombe, J., Moyle, L.C., Hudgens, B.R., Bloch, P.L., Chinnadurai, S., & Morris, W.F. (2002). The influence of academic conservation biology literature on endangered species recovery planning. *Conservation Ecology*, 6(15).
- Tear, T. H., Scott, J. M., Hayward, P. H., & Griffith, B. (1993). Status and prospects for success of the Endangered Species Act: a look at recovery plans. *Science*, 262, 976–977.
- Tolson, P. J. & Henderson, R.W. (1993). *The Natural History of West Indian Boas*. Taunton, England, R and A Publ., Ltd.
- Tolson, P. J. & Henderson, R. W. (2006). An overview of snake conservation in the West Indies. *Applied Herpetology* 3, 345–356.
- U.S. Fish and Wildlife Service. (1986). *Puerto Rican Boa Recovery Plan*. U.S. Fish and Wildlife Service, Atlanta, Georgia. 21 p.
- Wiley, J. W. (2003). Habitat association, size, stomach contents, and reproductive condition of Puerto Rican Boas (*Epicrates inornatus*). *Caribbean Journal of Science*, 39, 189–194.
- Wunderle, J.M., Mercado, J.E., Parresol, B., & Terranova, E. (2004). Spatial ecology of Puerto Rican Boas (*Epicrates inornatus*) in a hurricane impacted forest. *Biotropica*, 36, 555–571.

AUTHOR/AUTOR

Alberto Puente Rolón. Assistant Professor in the Department of Science and Technology at the Inter American University of Puerto Rico, Arecibo Campus. Earned a doctoral degree (Ph.D) in Tropical Ecology and an M.S in Biology / Ecology at the University of Puerto Rico, Rio Piedras Campus and Mayagüez Campus respectively. He has published several articles in peer reviewed journals. May be contacted via email: apuente@arecibo.inter.edu

Posee el rango de Catedrático Auxiliar del Departamento de Ciencias y Tecnología de la Universidad Interamericana de Puerto Rico, Recinto de Arecibo. Obtuvo grado doctoral (Ph.D.) en Ecología Tropical y M.S. en Biología/Ecología en la Universidad de Puerto Rico, Recintos de Río Piedras y Mayagüez respectivamente. Ha publicado varios artículos en reconocidas revistas profesionales. Puede ser contactado a través del correo electrónico: apuente@arecibo.inter.edu

LA INVESTIGACIÓN EN EL CAMPUS/ RESEARCH ON CAMPUS

Resumen de las investigaciones realizadas por nuestros estudiantes en el Recinto durante los últimos cinco (5) años en los campos de bioquímica y biología molecular, genética, biotecnología de plantas, ecología y microbiología.

Summary of research conducted on campus by our students over the past five years in the fields of biochemistry and cell biology, genetics, plant biotechnology, ecology and microbiology.

BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR/ BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

1-A Analysis of IL-8 levels in proliferative solid tumors and non-solid cancer

David García-Galí, Angela González-Ocasio, Raziel Rojas-Rodríguez, and Karen Woolcock

Interleukin-8 (IL-8) is a proangiogenic cytokine overexpressed in most human cancers, including pancreatic adenocarcinomas and multiple myeloma (MM). Pancreatic cancer is a more aggressive tumor than multiple myeloma and patients have a poor prognosis. MM patients have higher life expectancy and initially respond to thalidomide treatment. Since IL-8 has been related to increased aggressiveness of solid tumors, it may be related to the aggressiveness of non-solid tumors, such as MM. It is also possible that increased drug resistance of a non-solid tumor may be related to the reduction of apoptotic pathways or an increase of anti-apoptotic proteins, such as survivin. The aim of this investigation was to compare the production of IL-8 by HPAF II cells (a pancreatic cancer cell line) with RPMI-8226 cells (a MM cell line). ELISA was used to detect the levels of IL-8 on harvested media and the levels of survivin in cell extracts. IL-8 production and survivin levels were analyzed after treating RPMI-8226 cells with 10-100 mM thalidomide after 24-96 hours, using DMSO (0.02%) as a control. Our results show that HPAF II cells secrete almost ten times the amount of the IL-8 (116.8 pg/mL) produced by RPMI-8226 cells (8.7 pg/mL). Also, after treating RPMI-8226 cells with thalidomide, a four-fold increase of IL-8 production was observed. Furthermore, a two-fold increase of survivin production was observed in RPMI-8226 cells treated with thalidomide. The increased production of pro-angiogenic and anti-apoptotic proteins after thalidomide treatment may explain the relapsing of MM patients' after therapy and its declining prognosis.

1-B Effects of thalidomide in the proliferation and secretion of vascular endothelial growth factor on human multiple myeloma cells

Jeyshka Reyes, Lizmary Pizarro, Emeline Santiago and Karen Woolcock

Multiple myeloma (MM) is a progressive hematologic disease characterized by excessive numbers of abnormal plasma cells in the bone marrow. Studies have shown that several cytokines including vascular endothelial growth factor (VEGF) and Interleukin-8 (IL-8) are released by MM cells. MM patients are typically treated with thalidomide, but relapsing and resistance occurs after an initial remission of the condition. It is possible that the increased resistance of MM cells may be due to enhanced release of pro-angiogenic factors. The objective of this investigation was to characterize the growth of the MM cell line, RPMI-8226, analyze the effects of thalidomide in the proliferation of cells and to study the levels of VEGF by ELISA after treating the cells with cells with 10-100 mM thalidomide, 1-10 mM retinoic acid (RA) after 24-96 hours, using DMSO (0.02%) as a control. Our results show that thalidomide treatment increased the proliferation of cells in all the analyzed concentrations. Treatment with RA reduced the proliferation of cells dose-dependently. A reduction of more than 40% of proliferation was observed when cells were treated with 10 mM RA, and this effect was abolished when cells were treated simultaneously with

thalidomide, suggesting that thalidomide may target the RA receptor in the nucleus. Thalidomide treatment also produced a dose-dependent increase of VEGF secretion, suggesting that thalidomide may enhance the angiogenic-inducing capacity of MM cells. The increased proliferation of cells and levels of VEGF may explain in part the resistance to the treatment observed in patients relapsing to the disease.

1-C Effects of thalidomide, retinoic acid and prednisone in the proliferation of a human myeloma cell line

Bimary González, Britzi L. Marrero, Germán Rivera, Isaac Santiago, Arlyn Pérez and Karen Woolcock

Multiple Myeloma (MM) is a neoplastic disease characterized by the growth and accumulation of malignant plasma cells in the bone marrow (BM) secreting monoclonal immunoglobulins in the serum and urine. MM decreases the normal immunoglobulins and causes lytic bone lesions, renal failure, anemia and increased risk of infections. The purpose of the study was to analyze the effects of Thalidomide (Thal), Retinoic Acid (RA), Prednisone (Pred) in the proliferation of NCI-H929, and to optimize a BrdU protocol as an alternative for cell proliferation analysis. Cultured NCI-H929 cells at a concentration 2×10^4 cells/well were submitted to exposure with different concentrations of drugs as Thalidomide, Retinoic Acid, Thal/RA, and Prednisone. MTS-PMS proliferation assay were put into practice to establish the effect of the drugs on cell proliferation. Results suggest that retinoic acid is a high potential agent to reduce proliferation of NCI-H929 cells. Findings also suggest that after 48 hours exposure in vitro thalidomide and prednisone do not decrease cell proliferation. On the other hand, our findings suggest that thalidomide does not increase the antiproliferative effect of RA. The effect of thalidomide, retinoic acid and prednisone on the synthesis of DNA and cell proliferation of NCI-H929 was not established because of the difficulties encountered.

1-D Proteasome activity in multiple myeloma cancer cells treated with resveratrol

Chiu Ming NG Mei, Israel Candelaria and Lizbeth Romero-Pérez

Multiple myeloma is a type of cancer that affects plasma cells, which is a type of blood cell. Plasma cells are those that are responsible for producing antibodies. When the cell becomes cancerous, it is known as plasmacytomas, and produces antibodies (Class M) in excess. This disease is known as MGUS (Monoclonal Gammopathy of undetermined significance) which eventually becomes multiple myeloma. Other health problems that accompany multiple myeloma patients are: anemia, leukopenia, bone fractures, among others. The most common treatments for these patients are traditional chemotherapy, bone marrow transplantation, corticosteroids, plasmapheresis, and the use of proteasome inhibitors. The first proteasome inhibitor used to treat multiple myeloma was Bortezomib, produced by Millennium Pharmaceuticals. This drug can cause severe side effects. The objective of this research is to study the effects of natural antioxidant Resveratrol on proteasome activity in multiple myeloma cells. Different doses of resveratrol and different exposure times were tested. The results showed that resveratrol is more effective in the inhibition of the proteasome when used at lower concentrations. Further studies must be done in order to test other doses and to study proteasome expression.

1-E Survivin expression and secretion of pro-angiogenic factors as a possible mechanism of resistance to thalidomide treatment for multiple myeloma disease

Luis Borrero, Johan Gómez, Nilmary Grafals and Karen Woolcock

Survivin is a member of the Inhibitor Apoptosis Protein. It is normally expressed during development, while overexpressed in the majority of cancers, including multiple myeloma. Although incurable, thalidomide is a recognized therapy due to its immunomodulatory, anti-angiogenic, anti-proliferative and

pro-apoptotic properties. Myeloma cells often develop drug resistance leading to treatment failure in patients. It is possible that this resistance may be related to an increase in proliferation of the cells by evading apoptosis. Our objectives were to analyze the proliferation of RPMI-8226 cells and the expression of survivin after exposure to thalidomide and retinoic acid and to optimize the experimental conditions to obtain purified RNA. MTT assay was used to analyze RPMI-8226 cell proliferation after 24-72 hours of drug exposure using DMSO as a control. Survivin levels were evaluated through an Enzyme Immunoassay test and total RNA was isolated using TRI reagent. Our results show that there was not a significant reduction of RPMI-8226 cells viability with thalidomide, but retinoic acid produced a significant reduction. Treatment with thalidomide produced a 3-fold increase of survivin levels, suggesting that this treatment may affect multiple myeloma cells in such a way that increases its proliferation by inhibiting apoptotic pathways.

1-F Establishment of an “in vitro” angiogenesis model: Evaluation of cytokines and growth factor released by HPAF II and RPMI 2668 cancer cells

Luis Ortiz, Wilson Velez, Keisha Ortiz, and Karen Woolcock

Angiogenesis is the process by which new blood vessels are generated from preexisting ones. Malignant cells use this mechanism to proliferate and metastasize. It has been demonstrated that most tumors secrete pro-angiogenic factors which have been related with the aggressiveness of solid tumors. In order to establish if angiogenesis can be a predictor of aggressiveness of a non-solid tumor, the angiogenesis potential of a solid tumor (pancreas) and a non-solid tumor (multiple myeloma) was compared. For this, a model of in vitro angiogenesis assay was established using human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). HUVEC were exposed to five treatments: 1) growth media alone, media with 2) low serum, 3) IL-8 (1-10 ng/mL), 4) 2%-10% of media harvested from HPAF-II (pancreatic tumor cell line), or 5) from RPMI-8226 (multiple myeloma cell line). After treatment cells were seeded over a Geltrex-coated 24-well plate and incubated for hours. Cells were examined by phase-contrast microscopy and an angiogenesis score (0 for dispersed cells up to 4 for polygon structure formation) was assigned. Our results shows that HUVEC treated with HPAF-II harvested media (2% and 5%) and RPMI-8226 harvested media (2%, 5% and 10%) were able to attach, align, and begin to form organized polygonal structures. HPAF-II and RPMI-8226 cells secreted both VEGF (21.92, 125.5 pg/mL respectively) and IL-8 (116, 8.7 pg/mL respectively). When cells were co-incubated with RPMI-8226 harvested media and anti-VEGFR-1 or anti-VEGFR-2, the pro-angiogenic effect was inhibited, suggesting that the activation of both VEGF receptor subtypes are required for inducing angiogenesis

1-G Study of proteasome activity in multiple myeloma cells treated with resveratrol

Camille Amaro, Chiu Ming Ng Mei, Leonardo Viera, Jesús Torres, Omayra Colón and Lizbeth Romero-Pérez

The ubiquitin/proteasome pathway is responsible for the selective degradation of misfolded or nonfunctional proteins in eukaryotes. Unwanted proteins are tagged with a chain of at least four molecules of ubiquitin. The proteasome is a multi subunit protein complex of 2.0-2.5 MDa that exhibits protease activity and can recognize and degrade tagged substrates. It has been found that the proteasome is overexpressed in many cancer types. For that reason, proteasome inhibitors have been tested as treatments for cancer. Multiple myeloma is a type of cancer where plasma cells in the bone marrow are abnormal causing deficiencies in immunity and lytic bone lesions. Resveratrol is a natural compound found mainly in grapes and a potential anti-tumor and proteasome inhibitor function has been proposed. Our research objective was to study proteasome activity in multiple myeloma cells treated with resveratrol for 24, 48 and 72 hrs. Proteasome activity was determined using succinylated casein as a

substrate. Results showed that resveratrol reduced proteasome activity after all the treatments, especially at 24 hrs. These findings suggest that resveratrol acts as a proteasome inhibitor. Further studies will consider at what level of the ubiquitin/proteasome pathway resveratrol is acting on.

1-H Effect of *WHI4*, *FPR1*, *CPR1* and *YPL225w* gene deletions on cell morphology, budding and Myo1p localization of BY4741 *Saccharomyces cerevisiae*

Gabriel J. Castillo-Santiago, David Crespo-Matos, Catherine Del Río-Rodríguez y Milagros Gerena Rivera and Arlyn Pérez

In *Saccharomyces cerevisiae*, myosin type II (Myo1p) is a protein required for normal cytokinesis. Myo1p forms a ring at the bud site in late G1 or early S phase, shortly before bud emergence. This process was studied by determining how the deletion of *WHI4*, *FPR1*, *CPR1*, and *YPL225w* genes affect myosin 1 protein localization, cell budding and the morphology and diameter of mother, daughter cells and bud neck. The mutant strain with *whi4Δ* presented no changes in morphology, diameter or localization of MYO-YFP at the bud neck. The mutant strain of *fpr1Δ* presented no morphological changes but in late log, MYO-YFP was located in the complete cytoplasm. The strain of *yp/225w Δ* presented changes in localization of MYO-YFP and reduced diameter of cells and bud neck. The mutant strain of *cpr1Δ* presented elongated, misshaped, large round cells.

GENÉTICA/ GENETICS

2-A Analysis of *SURVIVIN* expression in a multiple myeloma cell line model after exposure to thalidomide and retinoic acid using real-time PCR

Christian Polanco, Marielly Mena, Jennifer Cruz, Arlyn Pérez and Karen Woolcock.

Survivin, an inhibitor of apoptosis protein is selectively expressed during development and in most human cancers but not in normal adult tissue “*in vivo*”, indicating that its over expression in cancer can play a crucial role in the inhibition of apoptosis and tumor progression. Multiple Myeloma (MM) is an incurable neoplastic disease characterized by the proliferation and accumulation of a single clone of a malignant plasma cell in the bone marrow, which stimulates bone destruction by osteoclasts and reduces bone formation by osteoblasts. Normally, myeloma patients are treated with Thalidomide (Thal); however, relapsing and multiple drug resistance occur after the first remission. All-trans retinoic acid (RA) is a derivative of vitamin A and is known as a regulator of cell proliferation, cell differentiation, and embryonic development. Previous investigations on campus lab showed that thalidomide had no significant effect over the proliferation of multiple myeloma cell line NCI-H929 and that retinoic acid reduced significantly the proliferation of these cells; therefore, the expression of anti-apoptotic protein survivin was studied as a key player for the resistance of these cells to thalidomide or as a key player in the reduction of proliferation induced by RA. Results showed that low concentrations of Thal increased the expression of *SURVIVIN* and that all concentrations of RA showed a down-regulation in the expression of *SURVIVIN*.

2-B CASPASE-3 gene expression in multiple myeloma cells under resveratrol treatment

Tania Colón, Anthony Robateau, Abner Pujols, Josue Santiago and Lizbeth Romero-Pérez

Multiple myeloma is a neoplastic disorder that accounts for 10% of all hematological malignancies. It is caused by abnormal plasma cells that develop in the bone marrow and can form tumors in areas of solid bone. These tumors make it harder for the bone marrow to make healthy blood cells and platelets causing immunological problems, as well as affecting the bone resorption process causing bone lesions.

It has been observed in many cancer types that cells become highly resistant to chemotherapeutic treatments. Resveratrol is a natural anti-oxidant found mainly in grapes and a potential anti-tumor role has been proposed. Our objective was to measure the levels of Caspase-3 gene expression in multiple myeloma cells treated with resveratrol for 24, 48, 72 and 96 hours. Caspase-3 gene codes for an apoptosis promoting protein. Cells were collected after treatment, RNA was extracted and analyzed by Real-time qPCR. Our results showed that the levels of Caspase-3 gene expression increased with resveratrol treatment. Further investigation is required in order to determine if the high levels of Caspase-3 gene are promoting cell death.

2-C Expression of *SURVIVIN* gene in multiple myeloma cells treated with resveratrol

Anthony Robateau, Tania Colón, and Lizbeth Romero-Pérez

Multiple myeloma is a type of cancer characterized by malignant plasma cells in the bone marrow. Patients with multiple myeloma are prone to lytic bone lesions and deficient immunity. *SURVIVIN*, a survival gene, codes for a protein involved in the inhibition of apoptosis. It has been shown that cancer cells can become resistant to chemotherapy by multiple routes, including through the inhibition of apoptosis. Our objectives were to investigate the expression levels of the *SURVIVIN* gene in multiple myeloma cells treated with resveratrol, a natural antioxidant. Resveratrol is found in grapes, berries, peanuts, and has been shown to exhibit anti-tumor properties. In this study, we analyze gene expression using real time quantitative PCR. Results showed that the level of expression of *SURVIVIN* declined after 24 and 48 hrs of treatment with resveratrol. Further studies are required to determine if the decrease in *SURVIVIN* expression is causing the inhibition of apoptosis.

2-D Evaluation of different methods for the isolation of genomic DNA from *Boa constrictor* tissue

Angélica Irizarry, Loraine Rivera., Mariliz Santiago, and Lizbeth Romero-Pérez

The *Boa constrictor* is one of largest snake species in the world, native to North, Central and South America and though not poisonous, it is currently an invasive species in Puerto Rico. Invasive species affect our native biodiversity in a number of ways. The Inter American University of Puerto Rico, Arecibo campus, is currently studying the *Boa constrictor* and our research is focused on the genetic analysis of this species. A genetic analysis is the ability to identify, study and comprehend the biological and physical characteristics of individuals based on their DNA. Since a successful isolation of genomic DNA is key to perform genetic analysis, the objective of this research was to compare and evaluate different methods of DNA extraction to determine which is the most suitable to obtain high quality and quantity of genomic DNA from snake tissue. Eight methods for DNA isolation were tested. Method 1, which was used before the extraction of gDNA in snakeskin allowed the isolation of pure DNA and in high concentration; the process took three days. Method 8, which was a commercial kit, was easy to perform, faster than method 1 and allowed the isolation of DNA of good quality. The most effective method was method 1. The study concluded that it is very important to establish the right proportion between the amount of tissue used and the lysis buffer to achieve efficient DNA extraction. Future plans involve the design of primers to study HOX genes in embryos and study paternity in *Boa constrictor*.

2-E Steps for cloning *hla* (alpha-toxin) gene from *Staphylococcus aureus*: implications for cancer therapy

Daniel Lisboa, Milagros Gerena, Juan Vega, Hector Villanueva, and Lizbeth Romero-Pérez

Cancer begins in your cells, and the body is constituted mostly of cells. Normally, your body forms new cells as you need them, replacing old cells that die. Sometimes this process goes wrong. New cells grow

even when you don't need them, and old cells don't die when they should. These extra cells can form a mass called a tumor. Cancer is not just one disease but many diseases. There are more than 100 different types of cancers. There are many cancer treatments, yet no cure. Researchers have demonstrated that the alpha toxin can cause apoptosis in some cancer cells. For that reason, we established steps to clone alpha toxin gene from *Staphylococcus aureus* in order to synthesize the protein for cancer studies. *S. aureus* strain was confirmed by biochemical tests and Gram stain. Using bioinformatics tools, we identified the alpha toxin gene in the genome of *S. aureus*, and used the information to generate primers. In order to prepare for future cloning of the gene, gDNA extraction, PCR and pUC19 (cloning vector) digestion were performed. In conclusion, the experiments performed resulted as expected, and we are looking forward to continuing our investigation in the future and to be able to express alpha toxin and test its ability to promote apoptosis in cancer cells.

2-F Effects of thalidomide and retinoic acid on SURVIVIN and CASPASE 3 expression in NCI H929
Belmaris Abrams- Rodríguez, Delianne Figueroa-Agosto, Rafael Gutiérrez-Rivera, and Arlyn Pérez

The aim of this study was to determine the effects of thalidomide and retinoic acid in the viability, concentration and the expression of *SURVIVIN* and *CASPASE 3* on NCI H929 Multiple Myeloma cell lines after a period of 48 and 72 hours of exposure. Multiple Myeloma is a plasmatic cell malignancy in the bone marrow. Survivin is a member of the family of the Apoptosis inhibitor proteins that is over expressed in a variety of cancer cells, and which has the ability to inactivate caspase 9. Caspase 3 has an important role in the apoptotic process. It has been shown that thalidomide and Retinoic Acid can reduce the viability of the cell inducing apoptosis in multiple myeloma cell lines. Cell viability was analyzed using Trypan blue exclusion. The expression of *SURVIVIN* and *CASPASE 3* was determined using quantitative real time PCR. Results indicated that thalidomide and retinoic acid had no effect on the viability of the cells and in the regulation of *SURVIVIN* expression. Although *CASPASE 3* was over expressed, we did not observe any effect on cell viability.

2-G Effect of thalidomide and retinoic acid on SURVIVIN and CASPASES- 3 expression in Rpmi-8226

Vonne Declet, Carlos Torres, Erick Rivera, and Arlyn Pérez

The research studied the viability of cell line RPMI-8226 and analyzed gene expression of *SURVIVIN* and *CASPASE-3* after exposure to Thalidomide, Retinoic Acid and their combination. Multiple Myeloma (MM) is a hematologic malignancy characterized by the clonal proliferation of plasma cells in the bone marrow. Genetic and microenvironmental changes lead to the transformation of these cells to malignant neoplasm (Singhai, et. al, 2006). We used the Trypan Blue Exclusion to determine cell viability. Expression analysis was also performed using the Step One Real-time PCR system and SYBR Green as reporter gene. GAPDH was used as a references gene. We analyzed the expression of *SURVIVIN* genes and *CASPASE 3* in RPMI-8226 cells after a 72 hours exposure to thalidomide, retinoic acid and their combination. The over-expression of *SURVIVIN* and *CASPASE-3* gene in treated cells was observed. We concluded that over-expression of *SURVIVIN* confers the ability of drug resistance in multiple myeloma cells, and that maybe survivin was indirectly inhibiting the activation of caspase-3, affecting the apoptosis pathway.

2-H RPMI-8226 cells treated with Resveratrol to determine expression and activation of Caspase 3
Daniel Lisboa, Ivonne Ortiz, Nyhad Shaban, Omar Rodríguez, Stephanie Arce and Arlyn Pérez

Multiple myeloma is characterized by the accumulation of malignant plasma B cells in the bone marrow. It is still an incurable malignancy. Caspases are initially produced as an inactive precursor. The inactive

form of Caspase 3 (procaspase 3) is a precursor protein of 32kDa. Active form of Caspase 3 is composed of two subunits of 17 kDa and 12 kDa, derived from the precursor protein. Resveratrol is produced in various plants, including red grapes skin, cranberry, blueberry and peanuts. It has been shown that resveratrol mediate apoptosis through the activation of a variety of different pathways: Fas, Mitochondrial, p53, Caspase 8 and 9. Resveratrol suppresses angiogenesis and acts as an inhibitor of different pro-angiogenic factors like VEGF and bFGF. Because Resveratrol is reported to display antitumor activities on a variety of human cancer cells, we investigated the effects of this compound on RPMI 8226 multiple myeloma cells. RPMI 8226 cells treated with resveratrol with a concentration of 50 μ m were exposed for 24 and 48hrs. We found that at transcript level, ProCaspase 3 showed an overexpression at 24hrs with statistical differences and a lower expression at 48hrs after treatment, showing no statistical difference. At protein level, ProCaspase 3 was detected in treated and untreated cells with resveratrol. Active form of Caspase 3 was observed in treated and untreated cells with resveratrol. These results suggest that resveratrol potentiate apoptosis cascade activating Caspase 3. Resveratrol is a potential drug for treating multiple myeloma.

2-I Effect of *KEL2* gene knock-out on Myo1p in *Saccharomyces cerevisiae*

Mariely Ortiz, Melvin Perez, Greisha Cabrera, Pearl Akamine, José Rodríguez, and Arlyn Pérez

Saccharomyces cerevisiae is used to understand basic cellular processes by studying gene-gene and protein-protein interactions. By studying protein interactions one can understand many biological processes, such as, cellular metabolism, biosignaling, cellular localization and morphology among others (Suter et al., 2006). A powerful technology used to facilitate membrane protein interactions is the integrated membrane yeast two-hybrid assay (Snider et al., 2010). This assay was used to determine interaction between the protein *KEL2* and the myosin type II protein (Myo1p). A disruption cassette of *KEL2* was constructed to study the effect of its deletion on Myo1p. We concluded that the knockout of *KEL2* did not affect its morphology, the budding process and the localization of the protein myosin 1.

2-J Detection of *HOXB5* and *HOXC6* in muscle and embryo tissues of *Boa constrictor* by PCR

Coralis Cordero-Tosado, Nicole Juarbe-García, Maybeliz Marengo-Serrano, Kendra Méndez-Negrón, Loraine Rivera-Ostolaza, and Arlyn Pérez

HOXB5 and *HOXC6* genes are part of a Homeobox of clusters (*HOXA*, *HOXB*, *HOXC*, *HOXD*) that control the structure and development of the body plan organization in vertebrates. *HOXC6* are expressed in the anterior regions of vertebrate embryos and *HOXB5* throughout the trunk. *Boa constrictor* embryo and muscle tissue was used to extract genomic DNA and to detect *HOXB5* and *HOXC6* genes by PCR. *HOXB5* was detected in the anterior section in embryo tissue; with a size of 111bp. *HOXC6* was not detected in anterior section embryo. Both genes were not detected in muscles.

BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS/ PLANT BIOTECHNOLOGY

3-A Detection of *MT2a* and *MT2b* genes in the leaves of *Arabidopsis thaliana*

Israel Candelaria, Darelis Carrión, David Sánchez, Arisahí Valentín, and Arlyn Pérez

Arabidopsis thaliana is a small flowering plant used as a model organism in plant research due to its fast growth and easy cultivation. Three MT gene families have been identified in *A. thaliana*: *MT1*, *MT2*, and *MT3*, whose expression has been reported to play a crucial role in metal detoxification and metal ion homeostasis as well as several other processes. Plants with MT genes may possibly be used in the

treatment of polluted soil and water. The *MT2a* and *MT2b* genes present in leaves are involved in the distribution and tolerance of copper. In this study, the *MT2b* gene was detected in the leaves of *A. thaliana*. The *MT2a* gene was not detected using genomic DNA.

3-B Detection of genetically modified products derived from corn by PCR

Hector Villanueva, Juan Vega and Arlyn Pérez

Corn is a major food source for many countries. It has nutritional value and is used in the industry for the production of adhesives, fuel, and sweeteners. Maize also serves as a model species for studies of numerous basic biological processes. Genetically modified (GM) corn is produced by inserting expression vectors with specific genes conferring new characteristics to the organism. Major advantages of GM maize include agronomic traits such as weed control and resistance to pests. The purpose of the study was to test if commercially available products included genetically modified corn. After testing on several products, GM corn was detected.

3-C Accumulation of Heavy Metals in *Hydrocotyle umbellata L.* collected from el Caño Tiburones in Arecibo

Mery Márquez, Ashley Sánchez, David Morales, and Lizbeth Romero-Pérez

The aquatic plant *Hydrocotyle umbellata L.* is classified as a hyper accumulator of heavy metals, and has the ability to grow in and out of areas with poor drainage. Considering this property, we studied the ability of rhizofiltration and phytoextraction in *H. umbellata L.* This property was evaluated by measuring concentrations of heavy metals (Cd, Ni, Cu, Cr) in root, stem and leaves from plants collected from soil and water at the wetland Caño Tiburones. The results obtained from water samples demonstrated that the root had the highest metal uptake for all metals tested except for Cd which was higher in the leaves. The highest metal uptake of Cu (6.8702 ppm) was observed in the roots. Metal uptake on samples collected from soil was: highest uptake on roots followed by shoots and the lowest was on leaves. The results suggest that *H. umbellata L.* is efficient in bioaccumulation of heavy metals due to its rhizofiltration capacity and can possibly be employed for bioremediation in effluents contaminated with Cd, Cr, Cu and Ni, as well as for phytoextraction for Cu decontamination. Future studies will involve the evaluation of genes associated with metal uptake in *H. umbellata L.*

3-D *Arabidopsis thaliana*: Cultivation and planting

Mery Márquez, Ashley Sánchez, David Morales, and Lizbeth Romero-Pérez

Although traditional technologies for cleaning contaminated soils and waters have proven to be efficient, they are usually expensive, labor intensive, and in the case of soil, produce severe disturbance. More recently, the use of plants in metal extraction (phytoremediation) has emerged as a promising alternative in the removal of heavy metal excess from soil and water. Phytoremediation of polluted waters is based on the cultivation of aquatic plants which have demonstrated a high capability to absorb cadmium (Cd), copper (Cu), nickel (Ni), and zinc (Zn) from aqueous solutions. A wide variety of plants have demonstrated the ability to grow and uptake heavy metals from severely polluted sites. Several species of *Arabidopsis* have already been tested in pilot phytoremediation projects. *Arabidopsis thaliana* is a small flowering plant native to Europe and Asia that is widely used as a model organism in plant biology. Genomic information from *Arabidopsis thaliana* reveals the presence of eight genes for heavy metal transport ATPases. This research focused on planting and cultivating *Arabidopsis thaliana* in order to identify genes responsible for absorption and tolerance of heavy metals. The cultivation and planting process was carried out in a controlled manner to ensure proper growth of the plants.

3-E Determination of heavy metal concentrations in *Hydrocotyle umbellata* and *Salvinia minima* from Caño Tiburones by FAAS

Angela Cruz, Loraine De Jesús, Geraliz Irizarry, Marly Rosado, and Arlyn Pérez

Heavy metals, such as Cr, Cd, Ni and Cu, are among the most important pollutants in soil, surface and ground water and are often discharged by many industries. The Caño Tiburones Natural Reserve is the largest wetland in Puerto Rico with suspected presence of heavy metal contamination. Phytoremediation is the use of plants to extract contaminants from soils and bodies of water. Plants like, *Hydrocotyle umbellata* and *Salvinia minima*, naturally uptake metals with some variations in concentrations of roots, stems and leaves. These plants are found in the Caño Tiburones Wetland in Arecibo, Puerto Rico and have been studied to determine the concentrations of chromium (Cr), cadmium (Cd), nickel (Ni) and copper (Cu) in roots, stems and leaves of *H. umbellata* and floating and submerged leaves of *S. minima*. The concentrations of these heavy metals were detected through Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (FAAS). High concentrations of these metals were found in the roots of *H. umbellata* and in the submerged leaves of *S. minima*.

ECOLOGY**4-A Body size and reproduction of the invasive *Boa constrictor* in Puerto Rico**

Camille Amaro, Jessica Maisonet, Félix Rivera-Marengo, and Alberto Puente Rolón

Boa constrictor is a species native to Central and South America, but has recently been reported as invasive in different countries, including Puerto Rico. The snakes achieve their sexual maturity when they reach 1.5-2 meters in length (~2-4 years). Each female has the capability of producing 20-60 hatchlings, thus generating vast populations wherever they proliferate, especially in the absence of predators. The objective of the study was to determine the size, distribution, and reproductive status of wild caught *B. constrictor* population established in Puerto Rico. Approximately 160 snakes were captured by personnel of the Department of Natural Resources and Environment. Snout vent length, tail length and body mass were documented, and each snake was dissected to determine its reproductive status. Average snout vent length for males was 132.6 ± 43.5 cm and 148.5 ± 39 cm for females. Males showed longer tails (19.1 ± 6.8 cm) than females (17.6 ± 4.3 cm). Average mass for males was 2411 ± 1911 g and 3480 ± 2754 g for females. The smallest mature male (maturity determined by presence of thickened and convoluted sperm ducts) was 106.5 cm SVL, a typical size at maturity for male *B. constrictor*. Gravid females have an average of 21 eggs. Our data on size suggest that *B. constrictors* in Puerto Rico are not as strongly food-limited as some other populations of species that have been reported on the island. Continuous population monitoring of this invasive species is necessary in order to foresee possible impacts on our native biodiversity.

4-B Diet of the invasive *Boa constrictor* in Puerto Rico

Maraliz Vega, Carola Torres, Daniel Santiago and Alberto R. Puente-Rolón

Invasive species can impact negatively by causing ecological disturbances extirpating native species from their habitat, and competing with other native species. The *Boa constrictor* is an example of an invasive species well established, caused mainly by the illegal traffic of exotic animals in Florida, Aruba, Cozumel and recently in Puerto Rico. The diet of these species on its natural distribution (Central and South America), consist mostly of mammals (bats, rats, porcupines, mongoose, rabbits, deer), reptiles (iguanas) and birds. The objective of our study was to determine the diet of the invasive *B. constrictor*. A total of

90 individuals (44 females and 42 males) were captured by the personnel of the Department of Natural Resources and Environment. Each individual was dissected to evaluate the stomach and gut content. Also, stable isotopes were used to compare the muscle signatures of *B. constrictor* with the muscle signal of the Puerto Rican Boa (*Epicrates inornatus*). Prey items documented includes Rat, mice, chickens, iguanas, mongooses and cats among others. Rat and mice (90%) was the prey item most commonly consumed by the *B. constrictor*. No difference in isotopic signal was detected when we compare muscle samples of *B. constrictor* and *E. inornatus*. Previous research taken place in Guam, Aruba, Cozumel and Florida, show that invasive snakes are responsible of population declines of mammals, birds and reptiles. Therefore, long term monitoring of diet of these new invasive is important to identify potential threats to our biodiversity.

4-C Evaluation of illegal pet trade of reptiles in Puerto Rico

Isamar Ocasio, Nelitza Martínez Vega, Celeny Ríos and Alberto Puente Rolón

The establishment of the illegal pet trade of exotic species has been identified as a threat to biodiversity. Illegal trade has gained ground through the internet, and is drastically increasing worldwide. This illegal market generates a 5 billion dollar industry, and close to millions in revenues per year in Puerto Rico. The objective of this study is to evaluate the illegal reptile pet trade through an internet selling site in Puerto Rico. This site was surveyed every two weeks from May to December 2012 to identify illegal reptile species for sale. A total of 346 (145 snakes and 301 lizards) sale offers were detected. The most common snake species were Red tail boas (Boa constrictors), Burmese python (Python molurus) and species of Kingsnakes (Lampropeltis sp.). In terms of lizards, Leopard geckos (Eublepharis sp.), Bearded dragons (Pogona sp.) and Tegus (Tupinambis sp.) were the most common pet trades. Some of the illegal reptile species in the pet trade in Puerto Rico have been identified as invasive in other countries such as the U.S., Spain and Aruba. Continuous monitoring is important to identify possible establishment of some species present in the illegal pet trade. Agencies also need to develop tools that include education and reduction or elimination of the availability of illegal species on local Internet sites.

MICROBIOLOGY

5-A Microflora asociada a la boa de Puerto Rico (*Chilabothrus inornatus*) y la corredora de Puerto Rico (*Borikenophis portoricensis*)

Camille Medina, Melvin Suárez-Capetillo, Manuel Delgado, Wandaliz Sánchez y Alberto R. Puente-Rolón

La boa de Puerto Rico (*Chilabothrus inornatus*) es la especie de culebra más grande de la isla. Esta especie fue incluida en la lista federal de especies en peligro de extinción en el 1970. La Corredora de Puerto Rico (*Borikenophis portoricensis*) es la segunda culebra más grande de la Isla. Muestras microbiológicas fueron tomadas con el propósito de identificar la microflora asociada a individuos de boa en su estado salvaje. Utilizando un hisopo estéril, se tomaron muestras del área de la boca, cloaca, vientre y dorso. Las muestras fueron cultivadas en medios enriquecidos y se observó su crecimiento a 25 y 37 °C. Los organismos aislados fueron identificados por su morfotipo, rasgos de tinción y por un perfil de pruebas bioquímicas. Un total de diecisésis bacterias han sido aisladas e identificadas hasta el momento en la Boa de Puerto Rico, mientras que en la Corredora se han aislado e identificado seis especies. Algunas de las bacterias identificadas en la Boa pertenecen a los géneros: *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Neisseria* spp. *Escherichia* spp. y *Pseudomonas* spp.; mientras que en la Corredora se han identificado: *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. *Staphylococcus* spp. La especie de bacteria más común en los individuos muestreados lo fue *Staphylococcus aureus*. El conocimiento de la

flora microbiana asociada a esta especie tiene implicaciones importantes en el manejo de la especie en cautiverio, ya que factores como el estrés, pueden producir una rápida proliferación de bacterias que podrían inducir la enfermedad o muerte del espécimen.

5-B Determinación de las propiedades antimicrobianas del extracto de ajo (*Aliyum sativum*)

Romina Soto Balseiro, Vanessa González López y José R. Ortiz Maldonado

Al ajo (*Aliyum sativum*) se le atribuyen propiedades como agente antibacterial, antifungal y antihipertensivo. Estudios recientes han demostrado su efectividad para combatir la malaria, amebiasis e inclusive han evaluado su efecto en la diferenciación de células cancerosas. Estas propiedades se atribuyen específicamente a la presencia del organosulfuro alicina (diallyl thiosulfinate). El presente estudio tiene como objetivo mostrar la efectividad del extracto de ajo como agente antibacterial. Se evaluó el efecto en *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Alcaligenes faecalis* y *Staphylococcus epidermidis*, bacterias gram-positivas y gram-negativas. También se comparó la actividad del extracto de ajo con los antibióticos comerciales como eritromicina, doxiciclina y bacitracina. Los resultados mostraron que el extracto de ajo fue efectivo inhibiendo a *S. epidermidis*, *S. aureus* y *A. faecalis*. Se encontró que el extracto de ajo fue más efectivo que la bacitracina, doxiciclina y eritromicina en contra de *A. faecalis*, *E. coli* y *S. aureus*.

5-C Comparison of external bacterial flora between newborns and adults of the Puerto Rican Boa (*Chilabothrus inornatus*)

Manuel Delgado, Melvin Suárez, Yasmín Quiles, Verónica Cardona, and Alberto R. Puente-Rolón

The Puerto Rican boa (*Chilabothrus inornatus*) is the largest native species of snake in the Island. This species was included in the Federal List of Endangered Species in October 13, 1970. Sterile swabs and phosphate buffered saline (PBS) were used to take samples from the ventral, cloacae, oral (in adults) and dorsal area. The bacteria identification process was throughout biochemical tests. A total of twenty different bacteria genus were found at this moment in adults of the Puerto Rican Boa and nine different bacteria genus in newborns. The most common genus founded in both snakes was *Staphylococcus*. However, the second most frequent genus in adults was *Proteus*. In the other hand, *Enterococcus* was the second genus to be founded in newborns. At this moment adults present, the larger diversity were founded on the dorsal area. Meanwhile, in newborns the ventral area had the larger diversity.

5-D Microflora asociada al chipojo de Puerto Rico (*Anolis cuvieri*)

Francisco Quijano, Brenda Guadarrama, Christian Vélez, Fernando Crespo y Alberto R. Puente-Rolón

El Chipojo de Puerto Rico (*Anolis cuvieri*) es la única especie de lagartijo gigante de la Isla. Esta especie se puede encontrar en elevaciones intermedias de la Cordillera Central y en los mogotes de la región norte de la Isla. No se conoce mucho sobre sus hábitos en estado salvaje. Se tomaron muestras microbiológicas con el propósito de identificar la microflora asociada a individuos del chipojo. Utilizando un hisopo estéril, se tomaron muestras de la boca, cloaca, vientre y dorso. Las muestras fueron cultivadas en medios enriquecidos y se observó su crecimiento a 25 y 37 °C. Los microorganismos aislados fueron identificados por su morfotipo, rasgos de tinción y por un perfil de pruebas bioquímicas. Algunas de las bacterias identificadas pertenecen a los géneros: *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Corynebacterium* sp. y *Lactobacillus* sp. El conocimiento de la flora microbiana asociada a esta especie tiene implicaciones importantes en el manejo de la especie en cautiverio, ya que factores como el estrés, pueden producir una rápida proliferación de bacterias que podrían provocar que el espécimen se enferme o muera.

5-E Densidad y Diversidad de Bacterias en la Cueva de los Culebrones, Arecibo, Puerto Rico

Yessica M. Medina, Sandra I. Rodríguez, Edwin Quinones, Idelisse Soto y Alberto R. Puente-Rolón

La presencia del ser humano en el ambiente subterráneo es una de las fuentes inevitables de daños en las cuevas. El propósito de este trabajo es identificar especies de bacterias presentes en la cueva, determinar la densidad y diversidad de microrganismos, así como la patogenicidad de los mismos con respecto a la fauna existente. Además nos permitirá establecer una base de datos que permitirán el monitoreo del impacto de la actividad antropogénica a largo plazo. Un total de dieciséis muestras fueron obtenidas del interior de la Cueva de los Culebrones localizada en la Reserva Mata de Plátano, Arecibo, Puerto Rico. Hasta el presente se han identificado organismos pertenecientes a los géneros: *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.* y *Micrococcus spp.*

OFERTA ACADÉMICA INTER-ARECIBO

MAESTRÍAS

Administración de Empresas

- Contabilidad
- Finanzas
- Recursos Humanos

Ciencias en Anestesia

Ciencias de Enfermería

- Cuidado Crítico
- Medicoquirúrgico
- Materno Infantil

Artes en Educación

- Consejería
- Gerencia y Liderazgo Educativo

Educación

- Enseñanza en el Nivel Elemental

Educación en Currículo y Enseñanza

- Español • Inglés • Matemática • Biología

Educación Especial

Certificado Profesional Post Maestría en:

- Consejería de Familia

Trabajo Social

- Administración en Trabajo Social
- Servicios Directos

Educación Física (Nivel Elemental)

Educación en Salud Escolar**

Educación Secundaria

- Español*
- Inglés como segundo idioma*
- Matemáticas
- Biología

Estudios Multidisciplinarios

Justicia Criminal

- Investigación Criminal
- Penología

Psicología

Trabajo Social

BACHILLERATOS

Administración de Sistemas de Oficina

Contabilidad

Desarrollo Empresarial y Gerencial

Gerencia de Recursos Humanos

Mercadeo

Biología General

Biotecnología

Ciencias de Computadoras

Preingeniería

Química

Ciencias de Enfermería

Educación Especial*

Educación Preescolar*

Educación Elemental

- Kinder a Tercero*
- Cuarto a Sexto*

GRADOS ASOCIADOS

Administración Comercial

Administración de Sistemas de Oficina

Ciencias en Enfermería

Ciencias de Computadoras

Contabilidad

Justicia Criminal

Ciencias Policiales

CERTIFICADOS TÉCNICOS

Ayudante de Laboratorio

Enfermería Práctica

Entrenador Personal

Operador de Computadoras

Técnico de Cuidado Infantil

Técnico de Cuidado Respiratorio

Técnico de Emergencias Médicas (Paramédico)

Técnico de Facturación y Servicios de Salud

Técnico de Farmacia

* Disponible "Online" y Presencial

** Disponible "Online" solamente

POLÍTICAS EDITORIALES/EDITORIAL POLICIES

GUÍA PARA LA PRESENTACIÓN DE ARTÍCULOS

A. Información General:

Inter Scientific es una revista académica de publicación anual del Decanato de Asuntos Académicos, Recinto de Arecibo de la Universidad Interamericana de Puerto Rico. Persigue el propósito de fomentar y divulgar investigaciones y artículos especializados del campo científico de las Matemáticas, Ciencias Naturales, la Salud y la Tecnología. Publica artículos inéditos de la facultad, estudiantes y especialista extramuros enmarcados dentro de alguna de las siguientes categorías:

1. **Artículo de investigación científica y tecnológica** – Documento que presenta de manera detallada, los resultados originales de proyectos de investigación completados.
2. **Artículo de revisión** - Documento resultado de una investigación terminada en la que se analizan, sistematizan e integran los resultados de investigaciones publicadas o no publicadas, sobre un campo en ciencia, salud o tecnología, con el fin de diseminar los avances y las tendencias de desarrollo. Presenta una cuidadosa revisión bibliográfica de entre 20 - 50 referencias.
3. **Artículo corto** - Documento breve que presenta resultados originales preliminares o parciales de una investigación científica, de salud o tecnológica, que por su importancia, requieren de una pronta difusión.
4. **Ensayos** – Documento que presenta la posición subjetiva del autor sobre temas en el campo de las ciencias y la salud.

La presente guía proporciona a los autores y revisores la mayoría de las especificaciones de formato necesarias para la preparación de los documentos que van a ser presentados a la Revista Inter Scientific.

B. Preparación y presentación de escritos:

Se ha diseñado una plantilla para la preparación y presentación de artículos con el propósito de facilitar a los autores el dar formato al documento y estilo al texto. Se podrá descargar la misma a través del siguiente enlace:

<http://www.arecibo.inter.edu/Portal/intersci.htm>

En la misma, los márgenes, ancho de las columnas, espacios de línea y fuentes de texto están preestablecidos, por lo que deberán observarse sin modificaciones. Aunque en la mencionada plantilla se proporcionan los distintos estilos de texto de algunos componentes, tales como las ecuaciones en varios niveles, gráficos y tablas, los mismos no son obligatorios. En la primera página de la plantilla se incluye una ficha biográfica que recoge información sobre el perfil del/os autor/es. Por ello, el artículo que se envíe para publicación, deberá venir acompañado de la referida ficha y guiarse por los siguientes lineamientos.

1. Podrán presentarse artículos cuyo texto sea en idioma español o inglés. El resumen (*abstract*) deberá someterse en ambos idiomas (inglés y español).
2. Los artículos tendrán una extensión máxima de acuerdo a su categoría:
 - i. Artículo de investigación científica – hasta 6,000 palabras
 - ii. Artículo de revisión – su extensión puede variar de acuerdo al criterio del/a autor/a.
 - iii. Artículo corto – hasta 4,000 palabras
3. Deberán seguirse estrictamente los lineamientos del manual de estilo de publicaciones de la American Psychological Association (APA), el cual puede accederse a través del siguiente enlace:

<http://www.apastyle.org/manual/index.aspx>
4. Todo contenido deberá someterse en formato digital Word para Windows (.doc), siguiendo el formato y especificaciones de la plantilla provista y los siguientes lineamientos de orden y de estructura:

Resumen (Abstract) – Es el sumario con el contenido del trabajo. Deberá presentarse en español e inglés con un máximo de 150 palabras e incluir los siguientes aspectos:

- propósito de la investigación
- métodos principales utilizados
- resultados más importantes
- conclusiones más significativas

Palabras claves (Keywords) – Cuatro palabras claves en español e inglés que describan el contenido principal del artículo. Se sugiere estén en orden de importancia. Se sitúan inmediatamente después del Resumen (*Abstract*).

Texto – El texto principal debe estar adecuadamente integrado, aunque dividido en secciones mediante encabezamientos de carácter informativo. Deben evitarse las notas al pie de página y la separación innecesaria de partes del texto en forma de anexos o apéndices. Los artículos de investigación científica deberán observar el siguiente orden de exposición ('IMRD'):

- Resumen
- Introducción – Cuál es el problema estudiado y por qué ha sido estudiado
- Materiales y Métodos – Cómo se estudia el problema
- Resultados – Cuáles son los hallazgos. Puede presentarse en forma de texto, tablas, gráficas o fotografías
- Discusión – Cuál es el significado de los resultados
- Conclusiones
- Referencias Bibliográficas

Agradecimientos – Hace referencia a instituciones, empresas, personas, entre otros, que han contribuido al trabajo que se publica. Se incluyen siempre y cuando sean necesarios.

Referencias bibliográficas – Se presentarán las fuentes o textos citados en el artículo siguiendo el Manual de estilo de publicaciones de la American Psychological Association (APA), el cual puede accederse a través del siguiente enlace: <http://www.apastyle.org/manual/index.aspx>

Tablas, gráficas, figuras y ecuaciones – La presentación de tablas, figuras, ecuaciones, referencias, unidades, abreviaturas y acrónimos, debe tomar en cuenta los requerimientos que del manual de estilo APA. En lo posible, las figuras y tablas deben ser ajustadas al ancho de la columna, de modo que no se distorsione la calidad de las mismas.

Fotografías – Deben utilizarse cuando no es posible la ilustración de lo que se indica en el texto. Preferiblemente deberán ser a color de alta resolución, enviadas en archivo aparte, formato JPEG.

Al presentar el artículo para publicación, el/los autor/es certifican que el documento es original inédito, entendiéndose que no ha sido publicado ni enviado a otros medios de difusión cualquiera sea su tipo; que es de entera responsabilidad de los autores y no compromete de manera alguna de la revista ni a la Universidad Interamericana de Puerto Rico.

En el interés de apoyar el intercambio de conocimientos, esta revista autoriza la reproducción de contenido para propósitos académicos no comerciales. Se requiere que se cite la fuente

Inter Scientific se reserva el derecho de aceptar o rechazar colaboraciones, así como el de colocar los artículos en la página web del Recinto y en otras bases de datos electrónicos que estimen pertinentes.

GUIDE FOR THE SUBMISSION OF ARTICLES

A. General Information:

Inter Scientific is an annual academic publication of the Office of the Dean of Academic Affairs of the Arecibo Campus of Inter American University of Puerto Rico. Its goal is to promote and disseminate research and scholarly articles in the scientific fields of Mathematics, Science, Health and Technology. It publishes original articles of faculty, students, and extramural specialists framed within one of the following categories:

1. **Article on scientific and technological research** – Document that presents in detail the original results of completed research projects.
2. **Review article** – Document which analyzes, systematizes, and integrates the findings of published or unpublished completed research in the fields of science, health, and technology, in order to disseminate the progress and development of trends. Presents a thorough review of 20 – 50 references.
3. **Brief article** – Brief article that presents preliminary or partial findings of original scientific research in the fields of health and technology of such significance that merits rapid dissemination.

4. **Essays** –Expository document that presents the author's subjective position on issues in the fields of science and health.

This guide provides authors and reviewers with most of the formatting specifications required of documents to be submitted to the Journal Inter Scientific. Although not intended to be a style manual for all scientific manuscripts, authors are encouraged to review it carefully.

A template for the preparation and submission of articles designed to facilitate formatting the document and stylistic aspects of the text is available at

<http://www.arecibo.inter.edu/Portal/intersci.htm>

The template provides preset features such as margins, column widths, line spacing, and references which should not be modified. Although it provides different text styles of components such as multi-level equations, graphs and tables, they are not mandatory. The first page of the template, which includes a record of the author's biographical profile, must accompany submission of the article.

B. Preparation and presentation of manuscripts:

1. Articles written in the Spanish or English language may be submitted. The abstract must be written in both Spanish and English.
2. In order to effectively review and edit submissions, articles will have a maximum length according to category of publication:
 - i. Scientific research article – up to 6,000 words
 - ii. Revision article – length may vary according to the author's criteria
 - iii. Brief article – up to 4,000 words
3. Manuscripts must adhere to the style manual of the American Psychological Association (APA), available via the following link:

<http://www.apastyle.org/manual/index.aspx>.

4. All content must be submitted in digital format as a Windows Word document, follow the format and specifications of the template provided, as well as the following guidelines.

Abstract – A brief summary of the research article written in both Spanish and English with a maximum of 150 words. Should include the following:

- Purpose of the research
- Primary methods used
- Most significant results
- Most significant conclusions

Keywords – Four keywords in Spanish and English that describe the main content of the article. It is suggested that the keywords be listed in order of significance. Place immediately after the abstract.

Text – The main text, though divided into sections with informative headings, should be adequately integrated. Avoid footnotes and unnecessary attachments or appendixes. Scientific research articles should follow the IMRAD format.

- Abstract
- Introduction – What is the problem and why is it being studied?
- Materials and Methods – How is the problem being studied?

- Results – What are the findings? Can be presented in the form of text, tables, graphs, or photographs.
- Conclusions
- References

Credits and Acknowledgments - Refers to institutions, companies, individuals, among others, who have contributed to the paper.

References - Sources cited in the article must adhere to the style manual published by the American Psychological Association (APA), available via <http://www.apastyle.org/manual/index.aspx>

Tables, charts, figures and equations - The presentation of tables, figures, equations, references, units, abbreviations and acronyms should follow the requirements of the APA style manual. Whenever possible, figures and tables should be adjusted to column width to minimize distortion of quality.

Photographs – Should be used when visualization of a concept is not possible in the form of text. Submit preferably in color and of high-resolution as a separate JPEG format file.

Upon submission for publication, the author(s) certify that the document is an original unpublished article, meaning that it has not been published or submitted to any other publication media. The author(s) assumes sole responsibility of authorship and does not make accountable in any manner Inter Scientific or the Inter American University of Puerto Rico.

In the interest of supporting the exchange of knowledge, this journal authorizes reproduction of content for academic noncommercial purposes. Sources must be properly credited and indicate that the Editorial Committee consents to the reproduction.

Inter Scientific reserves the right to accept or reject collaborations, as well as the right to place articles on the Campus website and other electronic databases as deemed appropriate.

Las contribuciones a la revista **Inter Scientific** deberán enviarse en medio electrónico al Decanato de Asuntos Académicos a la siguiente dirección:

Contributions to the journal should be submitted electronically to the Dean of Academic Affairs to the following address:

avega@arecibo.inter.edu.

INTER SCIENTIFIC

INQUIRY • NATURE • TECHNOLOGY • EVOLUTION • RESEARCH



UNIVERSIDAD
INTERAMERICANA
DE PUERTO RICO
RECINTO DE ARECIBO

AUGUST 2014

Universidad Interamericana de Puerto Rico Recinto de Arecibo

Decanato de Asuntos Académicos
P.O. Box 4050
Arecibo, Puerto Rico 00614-4050

Phone: 1-(787)-878-5475
Fax: 1-(787)-880-1624

Website: <http://www.arecibo.inter.edu>
<http://www.arecibo.inter.edu/Portal/intersci.htm>

AUGUST 2014



**INTER AMERICAN UNIVERSITY OF PUERTO RICO
ARECIBO CAMPUS**