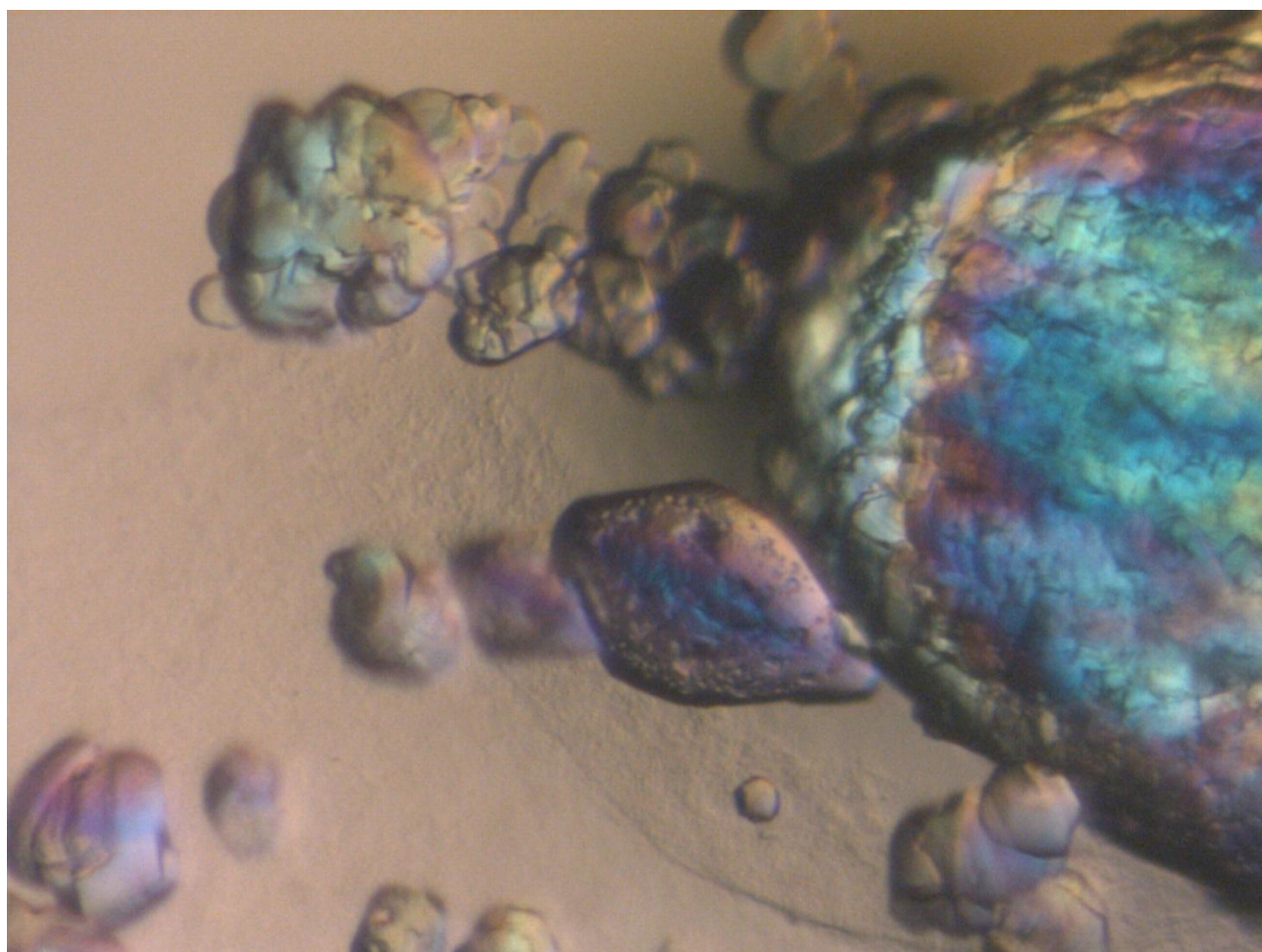


Moleola

Revista de Química de la
Universidad Pablo de Olavide

Número 11

Septiembre 2013



ISSN 2173-0903

Dibujo de portada

Almudena Ponce Salvatierra

Logotipo y Título de la revista

Juan Manuel García Arcos, Rafael Hoyos Manchado y Rafael Iigo
Roció Escudero Ávila, Inés Maldonado Lasunción y Javier Revello Sánchez

Plantilla de la revista

Norberto Díaz Díaz

Responsables de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Entrevista: Almudena Ponce Salvatierra
MoleQla General: Sofía Calero Díaz
MoleQla Bioinformática: Norberto Díaz Díaz
MoleQla Cristalina: Claudia Millán Nebot
MoleQla Nanotecnología: Ana Paula Zaderenko Partida
MoleQla Nutricional: Patrick J. Merklings
MoleQla Patrimonio: María Pilar Ortiz Calderón
MoleQla Sanitaria: Matilde Revuelta González
MoleQla Simulación: **Juan José Gutiérrez Sevillano**
MoleQla Viva: Guillermo López Lluch
MoleQla Termodinámica y Cinética: Jesús Lavado García
MoleQla Curiosidades: Said Hamad Gómez

Responsables de maquetación de las secciones que aparecen en este número

MoleQla Entrevista: Cristina Guillén Mendoza
MoleQla General: Alina Georgiana Ioja
MoleQla Bioinformática: Elena Santisteban Trigo
MoleQla Cristalina: Antonio Barral Gil
MoleQla Nanotecnología: Rafael Ruiz González
MoleQla Nutricional: María Remedios Domínguez Flórez
MoleQla Patrimonio: Clara Rodríguez Fernández
MoleQla Sanitaria: Rafael Blanco Domínguez
MoleQla Simulación: Antonio Barral Gil
MoleQla Viva: David Cabrerizo Granados
MoleQla Termodinámica y Cinética: Thomas Berger
MoleQla Curiosidades: Javier Macías León
Maquetador Global: Rafael Rastrero Prieto

Información sobre todas las secciones de MoleQla en <http://www.upo.es/MoleQla>

Editores

Sofía Calero Díaz
Ana Paula Zaderenko Partida
Juan Antonio Anta Montalvo
Patrick J. Merklings

ISSN 2173-0903

Editado el 21 de Septiembre de 2013

Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

EDITORIAL

Ya es otoño en la Universidad, y con la nueva estación iniciamos el curso y lanzamos nuestro número otoñal de MoleQla. Melancolías veraniegas aparte, este es, probablemente, uno de los momentos cumbre del año. La estación del reencuentro y el retorno a las aulas.

Al igual que el curso, MoleQla también regresa de su descanso estival repleta de magníficas contribuciones, gracias al esfuerzo y entusiasmo de autores, maquetadores y responsables de sección.

Viajar a través de las numerosas secciones que nos brinda este nuevo número nos descubrirá, entre otras muchas cosas, cómo hacer origami con ADN, la ciencia que se esconde tras el arte, qué sucede cuando tu sangre es dulce o cómo actúan algunos de los venenos más potentes de la naturaleza... Si estas pequeñas pinceladas de lo que encontraréis al abrir nuestra revista han despertado vuestra curiosidad, no lo dudéis, abridla, porque en ella os espera todo eso y mucho más.

Desde la redacción de molécula los editores os deseamos un feliz retorno al que sin duda será un buen curso.



ÍNDICE

1. MoleQla Entrevista

1.1 *A friend, an activist, a scientist, a woman*

2. MoleQla General

2.1 *Receta para zombies*

2.2 *“Veneno de las abejas” Utilidad en la medicina*

2.3 *Los superhéroes del laboratorio: los grupos protectores*

2.4 *La porfirinas*

2.5 *La química del enamoramiento*

2.6 *Conozcamos la codeína*

2.7 *LSD, una droga con historia*

2.8 *Lo que no sabemos del kriptón*

2.9 *Isótopos del agua permiten la determinación de los recursos hídricos de una planta*

3. MoleQla Bioinformática

3.1 *Uso de GeneMania para el análisis de expresión genética*

3.2 *Análisis de genes en Cytoscape*

3.3 *Visualización de genes en Cytoscape*

4. MoleQla Cristalina

4.1 *Descubriendo como sienten las células*

5. MoleQla Nanotecnología

- 5.1 *Copa de licurgo: Cuando ciencia y arte se dan la mano para hacer historia*
- 5.2 *Papiroflexia molecular*
- 5.3 *ADN origami: funcionalización y aplicaciones. De la cara sonriente a los nanochips*
- 5.4 *Síntesis y caracterización de Nanobees para su uso en terapia anticancerígena*

6. MoleQla Nutricional

- 6.1 *Vitamina C: del tratamiento del escorbuto a la lucha contra el cáncer*
- 6.2 *Ácido docosahexaenoico, esencial para nuestras vidas*
- 6.3 *Nitrosaminas: carcinógenos de uso diario*
- 6.4 *El safrol y sus efectos*
- 6.5 *Etileno y maduración de frutas*

7. MoleQla Patrimonio

- 7.1 *Estudio diagnóstico del estado de conservación de las campanas históricas de la Iglesia de San José (Puerto Real, Cádiz)*
- 7.2 *La Cruz de "El Porche" de Paradas (Sevilla)*
- 7.3 *Diagnóstico de la conservación y restauración del edificio metálico de Badajoz (antiguo mercado de abastos)*

8. MoleQla Sanitaria

- 8.1 *Fármacos comerciales contra el SIDA y sus dianas específicas*
- 8.2 *Esquizofrenia*
- 8.3 *Nuevos inhibidores de la bomba de protones en desarrollo: derivados imidazopiridínicos*
- 8.4 *Anorexia nerviosa*
- 8.5 *Alergias: presente y futuro*
- 8.6 *Diabetes Mellitus: La nueva epidemia del siglo XXI*
- 8.7 *Nuevas estrategias en el tratamiento de la hepatitis C ¿Atacar al virus o al huésped?*

8.8 *El fenómeno de Raynaud*

8.9 *Diagnósticos y nuevos enfoques en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa*

9. MoleQla Simulación

9.1 *Estudio de las propiedades dinámicas y estructurales del argón líquido*

10. MoleQla Viva

10.1 *El caso del primer hombre que se curó de SIDA*

10.2 *El cromosoma Filadelfia en la leucemia linfoblástica aguda en adultos.*

10.3 *Envejecimiento e Inmunosenescencia.*

10.4 *Siameses artificiales: un estudio de envejecimiento y neurogénesis*

10.5 *La compatibilidad sexual y los complejos de histocompatibilidad*

10.6 *Selección de nanocuerpos mediante un sistema de dos híbridos en bacterias*

10.7 *Mejora nanotecnológica de inmunoensayos: nano-ELISA*

10.8 *Motivos CpG: prometedores potenciadores del sistema inmune*

10.9 *¡Seguro que es lupus!*

10.10 *Neuroinflamación, ¿beneficio o perjuicio?*

10.11 *Esclerosis múltiple: cuando tu sistema inmune se vuelve contra ti*

10.12 *Encefalitis autoinmune. Los anticuerpos como arma de doble filo*

10.13 *Los superantígenos*

10.14 *Creación de vacuna de "Virus-Like Particles" para la enfermedad de la Hepatitis E*

10.15 *Síntesis de vacunas recombinantes en algas*

10.16 *"Hipótesis de la higiene", alergia y enfermedades autoinmunes*

11. MoleQla Termodinámica y Cinética

11.1 *Cal Viva: Obtención, Usos y Termodinámica*

11.2 *Con el grumo en la masa: Bizcocho y memoria atómica*

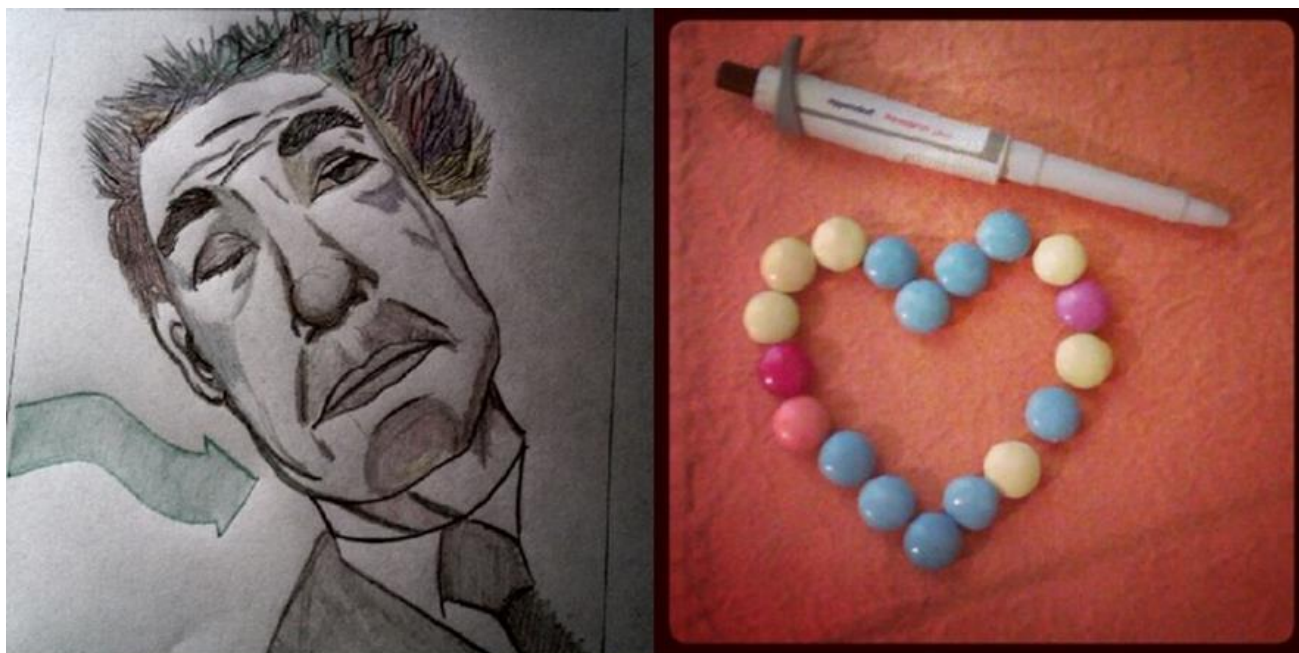
12. MoleQla Curiosidades

12.1 Melatonina exógena, ¿la panacea contra el jet lag?

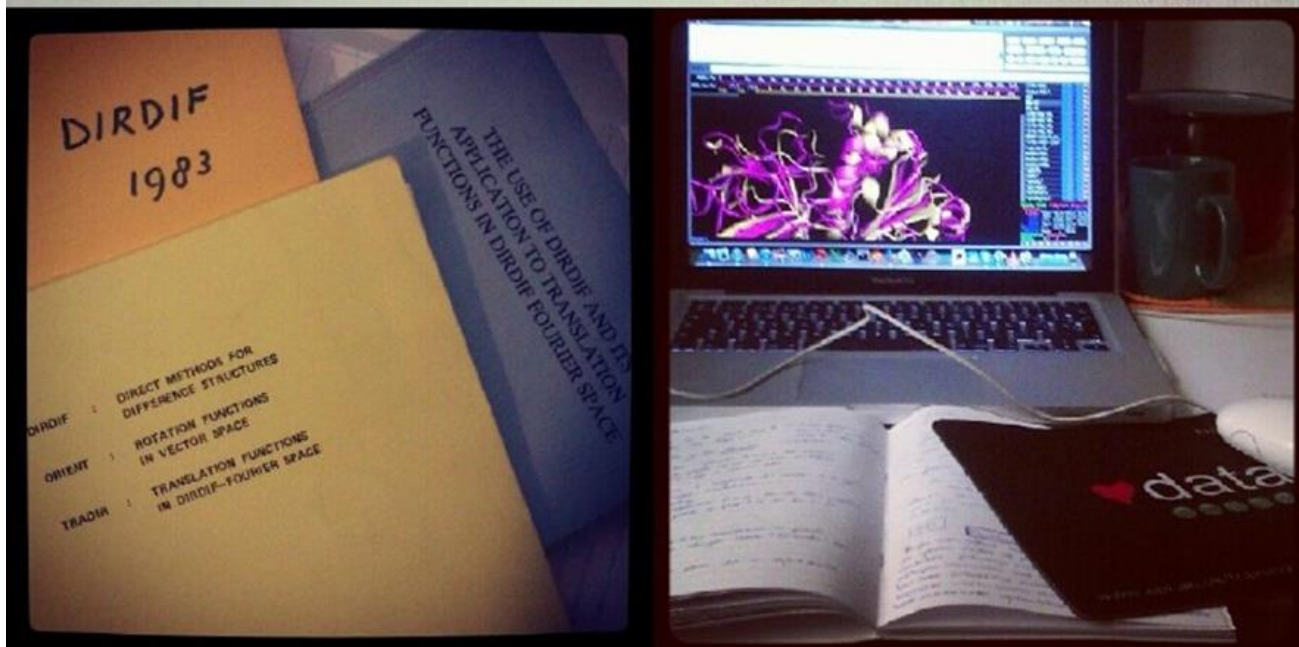
12.2 Oxitocina y la conducta social

12.3 Yo no tengo la sangre dulce

MoleQla Entrevista



What is your idea of a perfect day?



A friend, an activist, a scientist, a woman.

Almudena Ponce Salvatierra

Summary— Andreea Alexandra Scacioc, PhD student at the MPI for Biophysical Chemistry in Göttingen is not just a PhD student, as such. Andreea is a super woman that, besides her duties in the lab, takes care of students and post-docs interests. Her work in a committee that fights for PhD's rights and her strong faith in her team turns her into an example for many of the people surrounding her.

Key words— Committee, PhD rights, representative, students.

----- ◆ -----

-Who's Andreea Scacioc?

I have loved science since forever. So much that during university I could not pick just one so I took the courses for Physics, Chemistry and Biochemistry&Cell Biology at Jacobs University of Bremen. And now I found the perfect institute to do my PhD in, an institute that encompasses all my three loves: Biological sciences, Physics and Chemistry, the Max-Planck-Institute for biophysical chemistry.

-Tell us a bit about your PhD

I am working in a group that is set to crystallize proteins involved in autophagy. I chose protein crystallography because is a field in which you can equally find biologists, chemists and physicists. Moreover, autophagy, a cellular process in which a double membrane sac is built around cytosolic content and brings this to the lysosome for degradation, is a hot new topic.

-Besides your PhD, do you find time for other activities?

Besides enjoying a lot of time with my internationally diverse friends, I am doing some political and activism work. In terms of activism, I have organized the One Billion Rising, Goettingen this year. This is an international movement started by V-Day to empower women found in violent situations to leave them or fight against.

Also, I have been a student representative since I was 13 years old, in my secondary school. I have started then and never stopped. Now, I am a representative in the *Göttingen Graduate School for Neurosciences, Biophysics, and Molecular Biosciences* (GGNB) for the *Biomolecules: Structure-Function- Dynamics* program, a representative of my MPI in the PhDnet and a member of the steering group of the PhDnet of the Max-Planck-Society (MPS).

-What is all this? What is GGNB? For example.

First, GGNB is a graduate school to which PhD candidates in Goettingen doing a PhD in life sciences can apply. It gives a structure to PhD theses because the goal of the time spent as a PhD is to make you an independent researcher. Being in a graduate school, one can take method courses to further specialize beyond what is known in the group one does their PhD, or soft skill courses such as presentation skills, public speaking or a

foreign language. Moreover, one has to have some teaching done to get experience. Also, within a special program, such a *Biomolecules*, one has the opportunity to interact with people working on similar topics. *Biomolecules*, for example is the program for all structural biologists.

As a representative in *Biomolecules*, I meet every 2-3 months with the coordinators of the program and with all the other representatives and we discuss what improvements can be done. I also sit in the admissions panel for the program and participate in the board decisions regarding travel grants for conferences, thesis extension beyond three years, awarding a bridging scholarship for people who have defended but would need a couple of months to wrap-up their projects. Also, I organize a retreat once a year for the PhD candidates to present their work to each other.

The representatives of the MPIs organize the PhD/postdoc community in the institute. We organize soft skill courses, career seminars in which we invite people with a PhD from outside academia to talk about alternative careers, we organize facilities for people with kids such as a children room and a playground. We also discuss with the administration about issues affecting the PhDs and postdocs and inform them about changes in regulations. Once a year, representatives from the more than 80 MPIs meet in an annual meeting of the PhDnet which is the network encompassing more than 5000 PhD candidates in MPS. Here the representatives discuss common issues and how they tackled them at different institutes. They also form working groups that approach different tasks at the national level. For example, the survey working group makes every other year a survey about the situation of the PhD candidates in MPS with questions related to satisfaction with supervision, social benefits and payment and work-life balance. In the end, a report with statistics is published. The PhDnet uses this report to identify potential problems that have to be solved. For example, some years ago, the stipend holders complained that they have to pay by themselves too much to get a proper health insurance and this is why they were opting for a cheaper one that did not cover too much. Hence, PhDnet negotiated with the Headquarters

of MPS a health insurance subsidy for stipend holders to help them pay for an appropriate health insurance. Other working groups organize soft skill courses or a transdisciplinary conference.

At the center of the PhDnet there is the steering group which is formed by a spokesperson and 3 representatives of the three sections of MPS: bio-medicine (BMS), chemistry-physics-technology (CPTS) and humanities (HUM). We also have a financial officer and a general secretary. I am the elected CPTS representative.

The steering committee represents the PhDnet in front of the president of MPS, the general administration of MPS, different commissions inside and outside MPS and other organizations.

-How does one become a students' representative?

Well... one kind of volunteers for it. The older we get, I get fewer and fewer counter-candidates because people get more and more absorbed into their work and personal life and stop believing that anything can change. They get absorbed in the system and they learn to accept it. And most of the people think that their supervisor will get pissed on them if they do other things than work on their PhD project.

I believe that things can always be improved. And the truth is that we work in a scientific system that need urgent reform. Besides the fact that science became a business in which the coin are articles and impact factors, science is done by PhD candidates that are not acknowledged properly. They work long hours giving up their health and work-life balance to be paid as the bottom 10% of the country (at least in Germany). Moreover, a system that uses scholarships to pay actual employees, strips people of their right to social benefits such as health insurance benefits, pension, unemployment money or parental leave. The explanation is that PhDs are still students. However, I beg to differ: PhD candidates are professionals. And I am not alone to believe that. The EU Commission also believes so as they have written in the EU Charter for Researchers. <http://ec.europa.eu/euraxess/index.cfm/rights/europeanCharter> And by the way, the social benefits I was talking about are human rights as you could read in articles 23 to 25 in the Universal declaration of human rights. I was always passionate by human rights and fairness and having people happy and not frustrated. Maybe this is what drives me the most: making people happy.

-How did you get started in it?

When I was 7th or 8th grade, our school had the idea to form a student government with representatives of each class to talk to the principals. I was chosen for my class because I was the outspoken one. I did not have a clue about what I am supposed to do and I was scared about the idea that I have to ask the principals for things. I started by asking the people I represented what they wanted

to change and they said that the locker rooms at the sports hall would need some urgent remodeling. I was thinking; but that costs money and if they would have wanted to, they would have done it already. But, what they people who you represent ask you, you have to do it because the system is a representative democracy. So I have asked for this and I was amazed that the principals were asking questions and they seemed not to be aware of the situation. In the end, how could they be? One was a geography teacher and the other one was a physics teacher. The next summer we got our brand new locker rooms. This is how I have learned that sometimes you only have to inform the people of your needs and you get it. And never be afraid to speak up. Of course, if I would have faced failure at my first trial, I would not be here today. And the funny thing is that nowadays, I face more failure than success, but also the stakes are higher than a simple locker room. And also, now I am a representative in an organization in which the PIs traditionally have absolute freedom and giving us anything would mean to infringe that freedom. But that should not stop us from trying and keep on asking. In the end, even if it is after 10 years, we will get it. It is a matter of being persistent.

-What is your function in the steering committee?

We are all equal members of the team and everyone's opinion counts. We do not have particular tasks just because we have a label for a function. Tasks are assigned on the basis of who wants to do it or has more time in that period. I have learned a lot in the last year because I got the opportunity to work with diverse people. The team is formed by a few biologists from different fields (structural biology, marine microbiology and evolutionary biology), a social scientist, somebody who works in climate dynamics and one astronomer.



Fig.1. Andreea A. Scacioc

-Do you think that this sort of system, with representatives and meetings and so on is making a difference?

The difference it is making is that the voice of PhD candidates is heard. We take care to have statistics and good arguments that we are representing all 5000 PhDs in MPS and, our opinion is asked. Of course we do not always get what we ask for, but never in life you get that. However, the headquarters of MPS describes our relationship as a

win-win situation, so probably it is.

-If you could send a message to the people who are reading this article, what would it be?

I am always challenged when people ask me this in an interview because I speak so much and then you are asking me to reduce it to one thing. I believe that things can be changed if people refuse to accept the status quo. I could refer to two of my favorite quotes, one from George Bernard Shaw who said: "Reasonable people adapt themselves to the world. Unreasonable people attempt to adapt the world to themselves. All progress, therefore, depends on unreasonable people.". Actively refusing the culture one is raised with is the key of progress and do not be afraid to raise your voice because "the most common way people give up power is by thinking they have none", as Alice Walker once said.

-How can one start such a platform?

I was lucky that most of the student organizations I have been a member of were already there and encouraged by the institutions to which the people I represented were

affiliated. However, if your institution does not push for such an organization, start one. Start by having meetings and organizing things such as career seminars or student symposia. Once the administrations will see commitment they will slowly entrust you. Also, do not be afraid to ask questions to the decision making bodies about their regulations and if you do not like something, try to gather with others in your situation and set up a meeting with somebody who can change it. And most important: do not forget to take into account the opinion of all the people at your level and the most important tool for that are surveys. They also give you nice statistics to show that you are not a single person with that problem.



Almudena Ponce-Salvatierra

Diploma Pharmacy. University of Seville.
MSc. Crystallography and Crystallization.
UIMP.

PhD Student member of GGNB at MPI-BPC in
the groups of Nucleic acid chemistry and Mac-
romolecular crystallography.



MOLEQLA GENERAL

Receta para zombies

Ana Isabel Rodríguez Rodríguez

Resumen—La realidad a veces supera a la ciencia ficción y el caso de los zombies podría no ser una excepción: El pez globo tiene un veneno, conocido como tetrodotoxina (TTX), que es capaz de producir una especie de “muerte reversible” en las medidas adecuadas. Esta neurotoxina tiene su aspecto curioso, pero también prometedoras utilidades terapéuticas y relacionadas con la investigación del impulso nervioso.

Palabras Claves—Anestésicos, canal de sodio dependiente de voltaje, toxinas marinas, zombies.



1. LA TETRODOTOXINA, UN ARMA LETAL

Alo largo de la evolución, las especies marinas han desarrollado armas potentes y eficaces para sobrevivir en los océanos. Uno de los mecanismos más sofisticados es, sin duda, la producción de venenos. Hasta el ser vivo más diminuto y desprotegido puede sentirse seguro gracias a un arma tan poderosa. Dado que los océanos guardan gran cantidad de especies y, entre ellas, muchas generan toxinas, nos encontramos ante un abanico prácticamente infinito de posibilidades. O de peligros.

La existencia de sustancias marinas útiles para el hombre se conocía desde la más remota antigüedad, pero estas siempre habían estado asociadas a las creencias y a la superstición, e incluso a la religión[1]. De hecho, en el Antiguo Testamento, Deuteronomio 14, 9-11, podemos leer: “De todos los animales que viven en el agua, comerán todo lo que tiene aletas y escamas. Pero no los que no tienen aletas y escamas: a éstos los considerarán impuros”, lo cual supone una clara referencia a las especies del género *Tetraodontidae* (al cual pertenece el pez globo), entre otras. Sin embargo, parece ser que los primeros en utilizar el veneno de este pez fueron los chamanes haitianos para someter la voluntad de sus víctimas.

Supuestamente, el brujo extraía del hígado de un pez globo un peligroso veneno, la tetrodotoxina (TTX). El *polvo del vudú*, que contenía una dosis muy precisa de esta toxina, era suministrado al sujeto que iba a ser “zombificado” y este, al inhalarlo, entraba en coma repentinamente, disminuyendo sus constantes vitales hasta producir un estado de muerte aparente. Tras ser sepultado, durante la noche, el chamán rescataba al moribundo y lo reanimaba, pero ya las secuelas traumáticas y la falta de oxígeno en el cerebro dejaban en la persona lesiones irreversibles. La persona se habría transformado en un *zombi*. El temor ha sido tan fuerte en Haití que en algunos pueblos, ante las muertes repentinas, los familiares decapitaban los cadáveres, para evitar así la resurrección de los fallecidos.

Aunque en la cultura de Haití está fuertemente arraigada la creencia de que una persona puede ser revivida me-

dante la técnica antes descrita y está comprobado que es químicamente posible, aún no se han descubierto pruebas válidas para la comunidad científica que corroboren la existencia de estas prácticas por parte de los chamanes.

En Japón, sin embargo, existen casos documentados de envenenamiento por tetrodotoxina, pues el pez globo, allí llamado *fugu*, como el que aparece en la figura 1, es un manjar. Por supuesto, antes de ser cocinado, es necesario retirar la vesícula de la pieza sin que se rompa, pero ello no elimina totalmente el riesgo: la tetrodotoxina es una molécula termorresistente. De hecho, los restos de TTX que escapan a la habilidad del cocinero provocan en el comensal un hormigueo en la lengua y el paladar que forma parte de la gracia del plato y gracias al cuál su popularidad se ha visto aumentada.



Fig. 1. Que no engañe su simpático aspecto: el pez globo es uno de los habitantes del océano con peor carácter. Al sentirse amenazado, reacciona inmediatamente tragando agua, lo que aumenta su volumen notablemente y de esta manera consigue persuadir a su atacante. Si esto falla, la tetrodotoxina hará el resto.

2. UNA ESTRUCTURA EN FORMA DE JAULA

Antes de hablar acerca de sus propiedades, convendría conocer un poco esta sustancia. La tetrodotoxina es una molécula hidrocarbonada de grandes dimensiones y cuya fórmula es $C_{11}H_{17}N_3O_8$. TTX fue la primera toxina de origen marino aislada y estudiada. Su estructura fue revelada en el año 1964 por tres grupos independientes de investigadores[2]. Se caracteriza por un esqueleto de dioxiamantano, una guanidina en el carbono 2 que forma

parte de una hemiamina en su carbono 4 y un ortoácido en el carbono 10[3]. Contiene varios heterociclos y ciclos fusionados entre sí y numerosos grupos amino e hidroxilo que constituyen una estructura única en forma de jaula, como podemos ver en la figura 2.

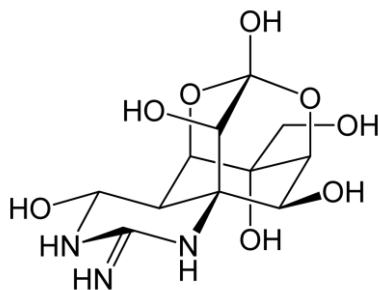


Fig. 2. Estructura molecular de la tetrodotoxina. Paradójicamente, esta pequeña jaula apresa estructuras mucho mayores que ella, como veremos más adelante.

Los grupos funcionales le confieren a la molécula de TTX zonas cargadas positiva y negativamente que son esenciales para facilitar la unión con otras moléculas y alterar sus estructuras, lo que se traduce en una alta reactividad. Además, la disposición espacial de sus átomos es de manera tal que le confiere a la molécula la propiedad de interactuar con estructuras biológicas específicas del organismo de la presa de forma muy compleja.

3. EL SECUESTRO DE LOS CANALES DE SODIO

¿Cómo puede una molécula de peso molecular próximo a 319 ser 10.000 veces más mortífera que el cianuro?

Cuando la membrana de las neuronas, por cualquier motivo, se hace un poco menos negativa, se abren algunos canales dependientes de voltaje (figura 3) que son permeables al sodio. Por estos canales entra sodio, y como tiene cargas positivas, neutraliza las negativas que hay en el interior de la membrana. Pero esto hace que se abran más canales, con lo que entra más sodio y la membrana se hace aun menos negativa. Esto produce una reacción en cadena que hace que rápidamente todos los canales se abran, y que la carga positiva se propague rápidamente por toda la membrana de la neurona. En un tiempo muy corto los canales de sodio se cierran, y se abren otros que dejan pasar el potasio. El potasio sale de la célula, con lo que el interior de la membrana vuelve a ser negativo, y la neurona queda en situación de transmitir otro potencial de acción. Básicamente, la TTX bloquea el canal de sodio dependiente de voltaje, de manera que impide la producción de potenciales de acción y paraliza la función de todo el sistema nervioso[4]. Los síntomas por envenenamiento son variados y dependen de la dosis recibida, pero en su mayoría son: hormigueo en extremidades y rostro (debido a la pérdida de sensibilidad por parte de nuestros músculos), parálisis general y fallo respiratorio, entre otros. Esto, por supuesto, puede producir la muerte,

pero en las dosis adecuadas la TTX se puede utilizar para provocar un estado de muerte aparente o, como ahora se está estudiando, como anestésico.

3. APLICACIONES FARMACOLÓGICAS

Los anestésicos locales disponibles en la actualidad tienen una duración en seres humanos de generalmente menos de 12 horas. Unos estudios recientes han demostrado en ratas que una combinación de tetrodotoxina con bupivacaína tenía efectos supra-aditivos sobre la duración del efecto de la anestesia. La combinación de TTX y epinefrina prolonga más de 10 veces el efecto anestésico de esta y además se reduce la toxicidad sistémica de la toxina. TTX está en la fase III de los ensayos clínicos como analgésico inyectable para el dolor crónico en el tratamiento del cáncer. Por ahora se estudia la opción de combinar pequeñas cantidades de TTX con otras sustancias anestésicas que permitan controlar su toxicidad, lo cual parece prometedor para prolongar la duración de la anestesia local [5].

La TTX también se administra como relajante muscular en casos concretos de epilepsia y como analgésico en pacientes que sufren cáncer, para aliviar los dolores, al igual que la morfina. Pero su uso no está muy extendido, debido al peligro que supondría un error mínimo en la dosis recetada o en su suministro, lo cual podría resultar fatal.

Igualmente importante es el hecho de que TTX ha sido utilizada como herramienta química en el laboratorio con el fin de estudiar el canal de sodio, otros canales de iones, y diversos aspectos de la excitabilidad de la membrana y la transmisión sináptica. Esto presenta numerosas implicaciones, sobre todo en cuanto a la fisiología del sistema nervioso y la contracción muscular.

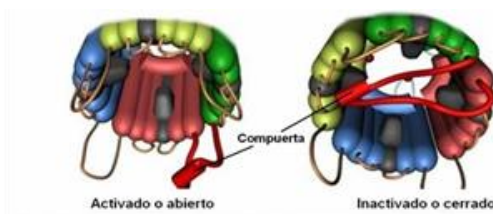


Fig. 3. Se sabe que el canal de sodio dependiente de voltaje tiene dos configuraciones, abierta o cerrada, según el potencial electroquímico del ión Na^+ y no requiere energía en forma de ATP.

4. EL MISTERIOSO ORIGEN DE LA TETRODOTOXINA

La fuente real de la tetrodotoxina es incierta. No se ha identificado su origen en ningún alga, y hasta hace poco se asumía que la tetrodotoxina era un producto metabólico del organismo huésped, ya que se encuentra originalmente en los ovarios y el hígado del pez globo y también del pulpo de anillos azules. Ahora ha quedado suficientemente claro, gracias a estudios recientes en bacterias marinas, que TTX no se sintetiza en este pez, sino que es

producida por varias especies bacterianas, incluyendo cepas de las familias *Vibrionaceae*, *Pseudomonas* y *Photobacterium phosphoreum* y llega a los peces a través de la cadena alimentaria. Estas bacterias marinas relativamente comunes, normalmente viven asociadas a animales marinos. Entre los estudios basados en la biosíntesis y el metabolismo de TTX llevados a cabo hasta el momento destacan los experimentos relacionados con su retrosíntesis y la síntesis de moléculas similares, mediante la síntesis Isobe y la Du Bois. Estos estudios siguen siendo discutidos y aportan nuevos enfoques que pueden ser útiles para la síntesis de fármacos y el conocimiento de esta neurotoxina [6], [7].



Ana Isabel Rodríguez Rodríguez es actualmente estudiante de primer curso de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.

5. CONCLUSIONES

Los seres humanos somos la única especie capaz de modificar el medio que nos rodea para adecuarlo a nuestras necesidades en lugar de adaptarnos nosotros a él.

La tetrodotoxina puede ser un mortífero veneno que protege a algunas especies marinas de sus depredadores, pero nosotros la podemos haber convertido en un instrumento para fabricar zombies, el curioso “condimento” de un exquisito plato japonés o un fármaco de gran utilidad médica. A pesar de que ya tiene muchos usos adjudicados, parece probable que muchas de sus utilidades estén por llegar. Por otro lado, su biosíntesis sigue siendo desconocida, pero todo indica que nos vamos acercando.

Pero no olvidemos que esta pequeña jaula es un potentísimo veneno. Después de todo, quizás deberíamos temer menos a los zombies y más al pequeño pez globo.

REFERENCIAS

- [1] A. Garateix, “Toxinas marinas”. *Revista Elementos* 26, Vol. 4. pp 41-46, 1997.
- [2] T. Narahashi¹, H. G. Haas¹, E. F. Therrien¹, “Saxitoxin and Tetrodotoxin: Comparison of Nerve Blocking Mechanism”. *Science*, Vol. 157 no. 3795 pp. 1441-1442, 22 September 1967.
- [3] U. Koert, “Syntheses of Tetrodotoxin”. *Highlights*, Vol. 43, pp 5572 -5576, 2004.
- [4] A. N. Akopian, V. Souslova, S. England, K. Okuse¹, N. Ogata, J. Ure, A. Smith, B. J. Kerr, S. B. McMahon, S. Boyce, R. Hill, L. C. Stanfa, A. H. Dickenson & J. N. Wood, “The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways”. *Nature Neuroscience*, vol. 2, pp 541 – 548, 1999.
- [5] Athiraman, Umeshkumar; Bognet, Christina; Berde, Charles Benjamin; Yahalom, Barak; Zurakowski, David; Corfas, Gabriel, “Tetrodotoxin-Bupivacaine-Epinephrine Combinations for Prolonged Local Anesthesia”. *Harvard Medical School, HMS Scholarly Articles*, F. Fogelman-Soulie and J. Herault, eds., NATO ASI Series F68, Berlin: Springer-Verlag, pp. 227-236, 1989.
- [6] T. Narahashi, “Pharmacology Of Tetrodotoxin,” *Toxin Reviews*, Vol. 20, No. 1 , pp 67-84, 2001.

“Veneno de las abejas” Utilidad en la medicina.

Aurora Laborda Illanes

Resumen—La apitoxina, conocida como el veneno de las abejas, es un excelente medicamento natural. Tiene distintas acciones terapéuticas como antiinflamatorio, analgésico, inmunoactivante, antiviral y otras. Estas propiedades terapéuticas son el resultado de la suma de propiedades de las fracciones que la componen, de la interacción de todas y cada una de ellas, y del equilibrio biomolecular que existe entre sus componentes.

Palabras Claves— Apitoxina, Fosfolipasa A2, Fosfolipasa B, Melitina.



1. INTRODUCCIÓN

La apitoxina, conocida comúnmente como veneno de las abejas, es un extraordinario medicamento natural. El veneno recién extraído se encuentra en estado líquido, es claro, casi incoloro, con un olor a miel acentuado, de sabor amargo y tiene un pH ácido de 5,5. Su nombre procede de dos raíces, una del latín *apis* (abeja) y otra del griego *toxikón* (veneno).

Este producto es segregado por dos glándulas que se encuentran ubicadas en el interior del abdomen de la abeja obrera. Una de ellas es alcalina y otra ácida. Este “veneno” es 80 veces superior a la morfina como calmante del dolor, sin tener los efectos secundarios que esta puede producir, entre ellos la dependencia por su empleo a largo plazo. Además, no sólo es un magnífico calmante del dolor sin efectos secundarios, sino que también es el mejor analgésico conocido.

2. HISTORIA

Las propiedades curativas de la apitoxina o veneno de abejas tienen una antigua historia. Según la literatura, algunos líderes conocidos como Carlomagno o Iván El Terrible (Iván IV Vasilievich, primer Zar de Rusia y considerado como uno de los creadores del Estado ruso) trataron sus dolores articulares con el veneno de las abejas. También egipcios, romanos, persas e incas usaban, hace milenios, tanto el veneno de abejas como el propóleo, la cera y la miel para tratar sus enfermedades.

En el Papiro de Ebers (el más importante papiro médico que data de la dinastía XVIII de Egipto, entre los años 1550 y 1295 a. C.) fueron registrados algunos de estos usos, al igual que en los escritos de Aristóteles, Plinio, Dioscórides, Galeno, Hipócrates y otros eruditos de la antigüedad.

Este “veneno” se empleó por primera vez en Europa en 1858, por el médico francés Demarti. El siguiente fue M. Lokumski de Petrogrado (San Petersburgo) en 1864, cuyo compatriota I.B. Lubarski escribió “El veneno de abejas - un remedio” en 1879.

Aunque nuestros ancestros participaron en el inicio del conocimiento de esta sustancia, el verdadero padre de la apiterapia fue Philip Terc, médico austriaco que tuvo que enfrentarse al dogmatismo académico del siglo XIX de Viena. Terc era reumático y padecía fuertes dolores articulares. Un día de 1868, estando sentado en su jardín fue atacado por muchas abejas y después de esto sus dolores comenzaron a disminuir. Posteriormente se entregó a averiguar la causa de su sorprendente e inesperada cura.

Más tarde, en Maribor (Yugoslavia), se dedicó al tratamiento de los enfermos de reumatismo mediante picaduras de abejas. Tras tratar a muchos pacientes, mostró ante la Universidad Imperial de Viena sus destacadas conclusiones y publicó sus resultados en 1888, en una revista de Viena. Después de este escrito, toda Europa Central empezó a mostrar interés por la apiterapia.

3. CARACTERÍSTICAS Y COMPONENTES

La apitoxina es muy compleja, y produce tres efectos: inflamatorio, convulsionante y paralizador. Según el Profesor Néstor Urtubey esta sustancia es un conjunto de 11 polipéptidos, 3 componentes de bajo peso molecular no peptídicos, 5 sustancias enzimáticas y otros componentes.

Unos componentes son más importantes que otros, además de por su acción por su concentración. Este es el caso, por ejemplo, de la Fosfolipasa A2 (lecitinasasa A) que tiene una particular afinidad por las membranas de célu-

las tumorales y por los lípidos que integran los virus, siendo responsable de su acción antitumoral y antiviral. Según Néstor Urtubey, la Fosfolipasa A2 y la Melitina actúan sinérgicamente, es decir, complementándose la una a la otra, por lo que aumenta su potencial de destrucción de células atípicas. Debido a esto, la acción de la fosfolipasa A2 está directamente relacionada con la concentración de Melitina en el medio. La suma de las cantidades de estos dos componentes en la apitoxina es de más del 60% de la composición de esta.

Otro de sus componentes característicos es la Fosfolipasa B o Lisofosfolipasa, la cual ejerce su acción sobre la lisolecitina, sustancia producida por la Fosfolipasa A2 mediante la transformación de ácidos grasos no saturados de lecitina. Esto muestra que la Fosfolipasa B también está relacionada con la acción de la Fosfolipasa A2, por lo tanto también lo está con la Melitina, teniendo acción antitumoral.

Estos componentes son los más abundantes en el “veneno de las abejas”, pero no son los únicos. Otros de ellos son la Hialuronidasa, la cual cataliza la hidrólisis del ácido hialurónico, considerado como el “cemento” de unión de los tejidos y las células del organismo, por lo que esta enzima debilita los tejidos de las cicatrices (acción antifibrosa), propiedad utilizada con objetivos estéticos y terapéuticos; la Fosfatasa ácida, enzima cuyos niveles aumentan cuando hay muerte celular, además es considerada, conjuntamente con la fosfolipasa y la hialuronidasa, la parte alérgena del veneno de las abejas; la Apamina estimula la secreción de heparina y origina neurotoxicidad sistémica, aunque en dosis pequeñas posee acción analgésica y puede llevar a la mejora del aprendizaje y de la memoria; el MCD-Péptido 401 (potente factor de degranulación de mastocitos) tiene acción antiinflamatoria, siendo 100 veces más eficaz que la hidrocortisona y superando la actividad de todos los compuestos conocidos. Además de dañar los mastocitos, libera la histamina y aumenta la permeabilidad capilar. Se piensa que es la fracción del veneno más importante debido tanto a su acción farmacológica, como a los esfuerzos realizados a lo largo de la historia por encontrar explicaciones concluyentes de su actividad; la Adolapina actúa como calmante del dolor, siendo un dato muy curioso el hecho de que es 80 veces más potente que la morfina y el opio. Además, ya que es un inhibidor natural de la síntesis de prostaglandinas, se utiliza como antiinflamatorio y anestésico.

TABLA 1.
COMPOSICIÓN DEL VENENO DE ABEJAS APIS MELLIFERA L.

Compuesto	Fracciones	% de peso seco
Enzimas	Fosfolipasa A2	10-12
	Fosfolipasa B o Lisofosfolipasa	1,0
	Hialuronidasa	1,0-2,0
	Fosfomonoesterasa ácida	1,0
	a-D-Glucosidasa	0,6
	Polipéptidos	Melitina
Melitina F		0,01
Apamina		2,0-3,0
Péptido 401 (MCDP)		2,0-3,0
Adolapin		1,0
Secapin		0,5
Tertiapin		0,1
Cardiopep		0,7
Minimina		2,0
Inhibidor de proteasa		0,01-0,8
Procaminas A,B	1,4	
Componentes no péptidos de bajo peso molecular	Histamina	0,7-1,5
	Dopamina	0,13-1,0
	Noradrenalina	0,1-0,7
Otros componentes	5-Hidroxitriptamina	0,0005
	Acido vanilmandélico	0,0005
	Isoamylacetato	

Así podría continuar describiendo cada uno de los componentes, que aparecen en la tabla 1, de esta interesante y “poco conocida” sustancia, ya que la mayoría de ellos tienen una acción importante para la mejora de la salud, siempre que se apliquen en dosis correctas.

4. ACCIONES TERAPÉUTICAS

La suma de las propiedades de los componentes de la Apitoxina, junto con la interacción que se produce entre ellos, y el equilibrio biomolecular que existe entre las fracciones de esta, dan lugar a las propiedades terapéuticas del veneno de las abejas.

Como hemos mencionado más arriba, según los estudios realizados posee varias acciones terapéuticas como son: antiinflamatoria, analgésica, antiarrítmica, cardiotónica, vasomotora, hipotensora, fibrinolítica, antiagregante plaquetario, eritropoyética, inmunoactivante, radio protectora, antibiótica, antiviral y antitumoral. “El veneno de las abejas” tiene unas magníficas propiedades medicinales, pero no todo son beneficios, ya que se debe tener en cuenta que su uso médico en tratamientos debe ser estrictamente controlado, y en dosis pequeñas. Si no se realiza de esta forma, una sola aplicación puede provocar un shock anafiláctico, poniendo en riesgo la vida del paciente.

5. EXTRACCIÓN DEL VENENO

De forma natural, el veneno es inyectado a través de un aguijón de una abeja habitualmente escondido en el interior del abdomen, pero que aparece inmediatamente frente a cualquier indicio de peligro para la colmena o para ella. En la cadena abdominal se encuentran los ganglios nerviosos que actúan presionando el depósito del veneno, de manera que este sigue penetrando en la herida de la víctima aunque la abeja haya muerto justo en el momento en el que entierra su aguijón, ya que no lo puede sacar como se puede apreciar en la figura 1, desprendiéndose tanto del aguijón como de su tracto digestivo, músculos y nervios.



Fig. 1. Imagen de una abeja picando a una persona.

Actualmente se han desarrollado métodos de extracción del veneno sin comprometer la vida del insecto. En la colmena se instala una parrilla vidriada conectada a una fuente electrónica de control, encargada de crear estímulos muy precisos para que la abeja libere el veneno, almacenándolo en un lugar de donde puede extraerse (figura 2).



Fig. 2. Colmena de abejas.

6. APITERAPIA

La apiterapia es la ciencia que utiliza los productos químicos producidos por las abejas para prevenir, curar o tratar al hombre de las enfermedades que le aquejan, y también posee aplicaciones en medicina veterinaria. La utilización de extractos de apitoxina en los tratamientos de apiterapia no ha conducido a los resultados esperados,

por ello es necesario utilizar todos los productos de la colmena, como la miel, el polen, el propóleo, el pan de abejas, la jalea real, la cera e incluso las larvas. La razón es que en estos productos encontramos un porcentaje altísimo de principios activos biodisponibles y alimenticios que el organismo humano necesita.

7. CONCLUSIONES

Esta sustancia, que para muchas personas es totalmente desconocida, puede formar parte de distintos tipos de tratamientos o incluso fármacos para tratar distintas enfermedades, como por ejemplo enfermedades de las articulaciones o alergias que actualmente tienen poco tratamiento. Gracias a la acción conjunta de todos sus componentes, como se ha dicho anteriormente, la apitoxina o “veneno de las abejas” tiene muchas funciones terapéuticas en el ser humano. Sólo podemos hablar de las acciones terapéuticas que actualmente conocemos, pero probablemente puedan existir otras muchas que nos vuelvan a sorprender, como en un principio ocurrió con este “veneno”. Nuestro conocimiento queda muy lejos de la complejidad de la naturaleza y siempre continuaremos descubriendo nuevos aspectos de esta, que en algunos casos ni siquiera podríamos sospechar.

REFERENCIAS

- [1] Web de la Asociación ecuatoriana de apiterapia. <http://www.computer.org> (Enlace web)
- [2] Web de la Biotecnología con respecto a la naturaleza. <http://www.apitoxina.com.mx/informacion.html>
- [3] Web de Apiterapia Apitel. <http://www.apitel.cl/productos/apitoxina/>
- [4] Web de Apiterapia Madrid. <http://www.apiterapiamadrid.com/la-apitoxina>
- [5] Web de Apiterapia Valencia. <http://www.apiterapiavalencia.com/apitoxina.htm>
- [6] Web de alergias al veneno de las abejas y avisvas. http://www.alergiaabejasyavisvas.com/secciones/sec1/seccion01_3a.asp
- [7] Web de Medlineplus (Información de salud para ustedes). <http://www.probiol.com/estudioquimicoydetoxicidadelvenenodeserpientesbothropsatrox.pdf>
- [8] Jennifer M. Hanson, J. Morley, and C. Soria-Herrera, “Anti-inflammatory property of 401 (MCD-peptide), a peptide from the venom of the bee *Apis mellifera* (L.)” *Br J Pharmacol.* 1974 March; 50(3): 383-392. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1776661/>
- [9] Web Tecnoculto. <http://tecnoculto.com/2012/06/17/rara-imagen-de-una-abeja-picando-a-una-persona/>
- [10] Web de Medicina biológica metabólica avanzada. <http://www.mundialsiglo21.com/apitoxina.html>



Aurora Laborda Illanes. Estudiante de primero de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide en 2013.

Los superhéroes del laboratorio: los grupos protectores

Laura Claret Fernández

Resumen—Este artículo pretende hacer un breve recorrido acerca de qué son los grupos protectores, qué funciones tienen y cuál es su importancia dentro del ámbito científico.

Palabras Claves— Grupos protectores, Grupos funcionales, Quimioselectividad, Reactividad, Síntesis.

1. INTRODUCCIÓN

Los grupos protectores, esos grandes desconocidos. ¿Alguien había oído hablar de ellos? Tal vez sí, pero ¿conocen cómo funcionan estos héroes? ¿Saben sus secretos? ¿A quién protegen?

En este artículo me propongo desentrañar todos estos enigmas desde el más puro rigor científico.

Los grupos protectores son un conjunto de moléculas que nos ayudan en el laboratorio a la hora de llevar a cabo reacciones químicas de diversa índole con otras moléculas orgánicas que contengan grupos funcionales.

Es posible que al realizar nuestra reacción ataquemos a ciertas partes de la molécula que preferiríamos no tocar. Ante esta situación, los grupos protectores intervienen, y nos permiten llevar a cabo esas reacciones sin tener que preocuparnos de si alteramos o no las otras propiedades de nuestra molécula.

Pero ¿cómo lo hacen? Ante esta pregunta, les invito a seguir leyendo.

2. LOS SUPERHÉROES POR DENTRO: ¿CÓMO FUNCIONAN LOS GRUPOS PROTECTORES?

2.1. Reactividad

Las moléculas que empleamos en el laboratorio tienen una cierta reactividad, que le confieren sus grupos funcionales. Hay grupos funcionales que son más reactivos que otros, y por lo tanto serán los más afectados. En el momento en el que queramos afectar a uno de los grupos menos reactivos pero no al más reactivo, necesitaremos de un grupo protector.

Nuestro grupo protector, como cualquier otra molécula con ansias de intervenir, se fijará primero en el grupo funcional más reactivo (**quimioselectividad**), y enmascarará sus propiedades, como puede observarse en la Figura 1.

Esto nos permite trabajar cómodamente con la sustancia y alterar el resto de grupos funcionales menos reactivos, sin tener que preocuparnos del grupo más reactivo, el cual está a salvo.

Más adelante hablaremos de cómo nos deshacemos de estos héroes una vez dejan de sernos útiles.

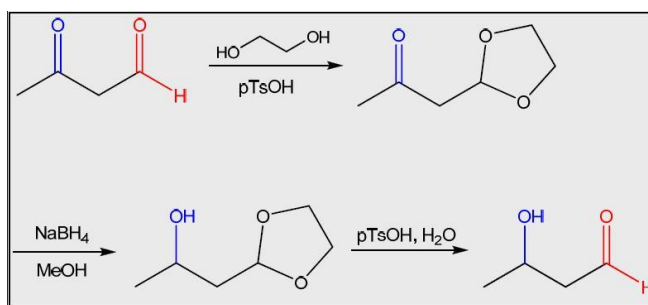


Fig.1 Mecanismo de protección de un aldeído

2.2. Mecanismo de Protección

Dependiendo del grupo protector que necesitemos, es decir, dependiendo del grupo funcional al que queremos enmascarar para evitar dañarlo, endremos un mecanismo de reacción u otro.

En cualquier caso, la estrategia siempre será la misma: modificar de alguna forma el grupo funcional para bajar su reactividad de forma drástica e impedir que participe de la reacción.

Aunque más adelante asociaremos distintos grupos funcionales a varios grupos protectores, en la Figura 2 puede apreciarse un mecanismo de reacción de uno de estos grupos protectores.

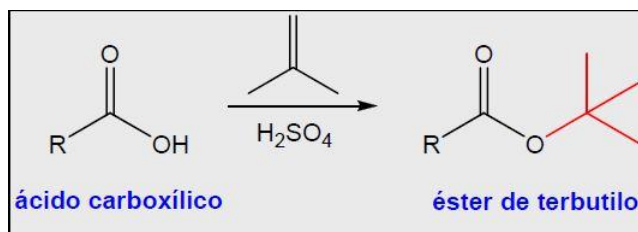


Fig. 2 Mecanismo de reacción de protección de un ácido carboxílico mediante esterificación

2.3. Características de un Buen Grupo Protector

Los grupos protectores, aunque eficientes, poseen un costo extra en la reacción, tanto de tiempo como de trabajo, ya que deben realizarse dos reacciones de más, una para introducir el grupo y otra para retirarlo. Además, también representan un costo extra económico, puesto que tienen su precio.

Por ello, las características que debe poseer un buen grupo protector son:

- En primer lugar, y después de lo que hemos visto, debe ser **barato**.
- Debe poderse unir a la molécula polifuncional **quimioselectivamente**. Además, su unión debe ser **fácil y eficiente**.
- Debe ser fácilmente **caracterizable**, y no generar problemas de formación de centros quirales.
- Debe ser **estable** ante las diversas situaciones a las que se somete la molécula de estudio (purificaciones, condiciones de reacción, etc.).
- Debe ser **fácil de eliminar** una vez terminada su función, nuevamente de forma **quimioselectiva y específica**.
- Por último, una vez que desprotegemos, el grupo protector debe poder **separarse fácilmente**, ya que si no entorpece las futuras aplicaciones de nuestra muestra.

3. SALVANDO VIDAS: ¿QUIÉNES SON LAS VÍCTIMAS?

A continuación expondremos una relación de los grupos funcionales que se protegen habitualmente y sus respectivos héroes enmascaradores. En algunas de las reacciones podremos ver ejemplos.

- **Aldehídos y cetonas:** se protegen en forma de acetales, rompiendo el doble enlace con el oxígeno para disminuir su reactividad. Para ello se emplea una molécula de etenilglicol. Ésta se retira posteriormente mediante hidrólisis ácida en condiciones suaves (Figura 1).
- **Ácidos carboxílicos:** Los problemas de ácido-base que dan los carboxilos se remedian habitualmente mediante la conversión de éstos en ésteres y limitándolos con un gran impedimento estérico. Los ésteres formados pueden ser de etilo y metilo, *tert*-butilo (Figura 2) y *bencilo*. Los primeros tienen unas condiciones de desprotección muy extremas que pueden resultar contraproducentes. Los otros dos poseen condiciones mucho más suaves, mediante hidrólisis ácida suave e hidrogenólisis respectivamente.

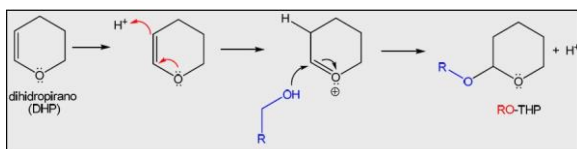


Fig. 3 Mecanismo de heroicidad del DHP

- **Alcoholes:** Son las moléculas que más diversidad de grupos protectores tienen. Tanta, que me veo obligada a hacer un resumen muy escueto para evitar la eternización de esta sección. Los alcoholes pueden protegerse como:

- **Acetales:** Se emplea DHP (dihidropirano), que los transforma en acetales mixtos (Figura 3). Su desprotección se realiza mediante hidrólisis ácida, en condiciones suaves.

- **MOMO (metoximetil éter):** También genera un acetal, empleando para ello cloruro de metoximetil éter. Su desprotección se realiza mediante condiciones muy extremas de acidez (poco recomendable en moléculas polifuncionales).

- **Tritil éteres:** Protección de alcoholes primarios, ya que los secundarios y terciarios poseen un gran impedimento estérico. Esto permite una protección diferencial. La desprotección se realiza mediante hidrólisis ácida suave.

- **Silil ésteres:** Es uno de los grupos protectores más empleados, que aumenta la volatilidad del compuesto para favorecer pruebas como la espectroscopía de masas. La sustancia empleada es el *trialquil silicio*, que puede poseer varios sustituyentes. La desprotección se realiza en condiciones suaves, siendo la velocidad de la ruptura inversamente proporcional al tamaño de dicho sustituyente. Los hay de muchos tipos, pero aquí no entraremos en esas consideraciones.

- **Éteres de bencilo:** Son muy poco empleados, ya que los éteres en general son muy poco reactivos. Esto hace que sean buenos grupos protectores en acción, pero las condiciones de desprotección son muy drásticas, lo cual es contraproducente. En este caso el más empleado es el *bencil éter*, que protege alcoholes primarios quimioselectivamente.

- **Éteres de metilo:** Sus características son como las del éter anterior. En este caso se emplea para alcoholes impedidos estéricamente, aunque está especializado en la protección de fenoles. La sustancia empleada es el *diazometano* (CH_2N_2).

- **Ésteres:** Es un método eficaz y barato para la protección de este grupo, específicamente en formación de glúcidos y péptidos y en reacciones de oxidación. La desprotección se realiza mediante solvólisis básica (sustitución nucleófila en la que el disolvente se emplea como reactivo atacante)[1].

- **1,2 y 1,3 dioles:** Se protegen normalmente en forma de anillos de cinco miembros (dioxolanos) o de anillos de seis miembros (dioxanos), mediante a reacción de dichos dioles con una cetona o un 2-

metoxipropeno (Figura 4), formándose el dioxolano con el 1,2 diol y el dioxano con el 1,3 diol. En ambos casos la desprotección es muy sencilla, siendo lo más complejo una reacción de reducción.

[2] es.wikipedia.org/wiki/Uretano



Laura Claret Fernández es estudiante de primer curso de Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide, donde tiene pensado cursar el resto de su carrera. Realizó el Bachillerato en el centro escolar Padre Luis Coloma, en Jerez de la Frontera, Cádiz. Realizó la Prueba de Acceso a la Universidad en el mismo municipio, y se trasladó a Sevilla para realizar sus estudios universitarios.

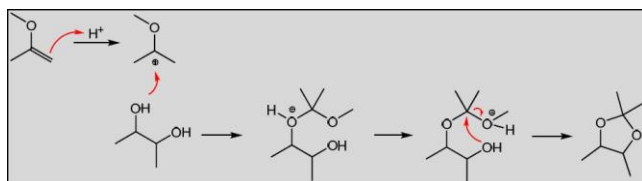


Fig. 4 Mecanismo con formación de carbocationes del 2-metoxipropeno en la protección de 1,2 dioles

- **Aminas:** Aunque su protección transformándolas en amidas pudiera resultar lo más sencillo, las condiciones de desprotección son demasiado agresivas, empleándose en su lugar uretanos (compuestos con un grupo carbamato ($R-NH-C(=O)-O-R'$) en común. Derivados del ácido carbámico)[2]. Se desprotegen mediante hidrogenólisis o hidrólisis ácida en condiciones suaves (Figura 5).

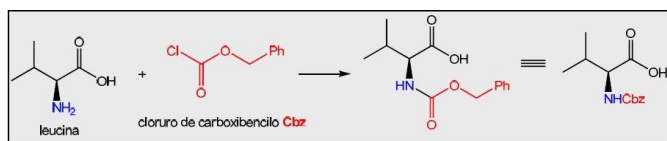


Fig.5 Mecanismo de protección de aminas mediante cloruro de carboxibencilo

3. CONCLUSIONES

Como hemos podido ver a lo largo de este artículo, los grupos protectores son unas moléculas muy útiles para el día a día en un laboratorio de química, especialmente de síntesis, ya que son fundamentales para alterar algunas de las propiedades químicas de las moléculas sin afectar a otras que nos sean útiles.

Sin ellos, nos sería imposible o muy complicado realizar algunas reacciones y obtener algunos compuestos, por lo que estos héroes en la sombra deben ser conocidos y respetados. Espero haberles hecho justicia en este artículo. Muchas gracias por acompañarme en esta trepidante aventura.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer a Carmen y Josep su apoyo incondicional en todos sus proyectos. Gracias por ser como sois.

REFERENCIAS

Este artículo está íntegramente basado en capítulo 4 de grupos protectores del manual Síntesis orgánica, de Gustavo A. Escobar P., exceptuando algunas búsquedas de información.

- [1] www.buenastareas.com/ensayos/S%C3%ADntesis-y-Solv%C3%B3lisis-Del-Cloruro-De/147365d1.html

Las porfirinas

M^aÁngeles Valera Cerdá

Resumen— A pesar de ser unas moléculas poco conocidas, las porfirinas son fundamentales para la vida. Desde un punto de vista evolutivo aparecen a menudo relacionadas con todas las facetas del metabolismo aerobio. Por eso, cualquier alteración en su estructura puede causar trastornos fatales.

Palabras Claves— Clorofila, Hemo, Metabolismo, Porfiria, Porphirinas.

La palabra porfirina, a la mayoría de la gente no le dirá nada, tan solo es una palabra fea, algún término científico incomprensible. Sin embargo, esta palabra esconde algo simplemente fundamental, no sólo para nosotros, sino para la vida en general. Para hacernos una idea de su importancia, se puede decir que las porfirinas son unas moléculas orgánicas responsables del color de la vida, desde el verde de las plantas al rojo de la sangre [1].

Químicamente, las porfirinas son el grupo prostético de muchas proteínas como la hemoglobina, la clorofila y los citocromos que participan en la cadena de transporte de electrones. El núcleo de las porfirinas tiene forma de macrociclo plano formado por cuatro anillos pirroles unidos por puentes meténicos (-CH=) (Fig. 1). Son sistemas aromáticos $(4n+2)$, con capacidad de resonancia electrónica, lo que les confiere una gran estabilidad. En su centro se encuentra el sitio de unión para un átomo de metal, por ejemplo hierro, en el caso del grupo hemo de la hemoglobina, o magnesio en la clorofila. Los distintos sustituyentes laterales del anillo determinan los distintos tipos de porfirinas: uroporfirina, coproporfirina, protoporfirina, etc, siendo esta última de especial importancia, y que presenta como sustituyentes 4 metilos, 2 vinilos y 2 grupos propiónicos.

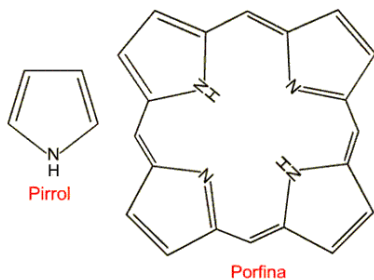


Figura. 1. Anillos porfirínico y pirrol

Para intervenir en los procesos biológicos, las porfirinas forman derivados llamados metaloporfirinas. Sin embargo, las hierro-porfirinas tienden a formar agregados de elevado peso molecular, lo cual no es precisamente bueno para el organismo. Para solucionar este problema la naturaleza, sabiamente, ha incrustado las hierro-porfirinas en regiones hidrofóbicas internas de proteínas, evitando su

contacto entre ellas. La única excepción son las clorofilas a y b, en las que las metaloporfirinas se encuentran libres. Pero la función de estas en la clorofila es diferente a la que realizan en el resto de complejos, y la cumplen precisamente en estas formas agregadas. Las clorofilas, gracias a sus propiedades ópticas y magnéticas, captan la energía electromagnética solar que se utiliza para producir la fotólisis del agua en la fotosíntesis.

En el organismo de los humanos es donde las porfirinas cumplen otra de sus funciones más importantes, la del transporte de oxígeno. Las porfirinas con el hierro como centro metálico constituyen el grupo hemo, centro activo de la hemoglobina, principal componente de los eritrocitos y la que les da ese color rojo característico. La hemoglobina es una heteroproteína formada por cuatro cadenas polipeptídicas, dos α y dos β . Cada una de estas subunidades contiene incrustado en su parte superior un grupo hemo (Fe Protoporfirina IX), unido mediante fuerzas de Van der Waals. Este átomo de hierro tiene otros dos sitios de unión para unirse a oxígeno molecular y así transportarlo por el organismo. Según la naturaleza y la colocación de los sustituyentes externos del ciclo porfirínico las porfirinas presentan 15 isómeros diferentes.

El proceso de biosíntesis del grupo hemo tiene lugar dentro de nuestro organismo en el hígado y la médula ósea roja. Este proceso comienza con la condensación del aminoácido glicina y succinil-CoA, proveniente del ciclo de Krebs, para formar delta-aminolevulinato, reacción catalizada por la encima ALA-sintasa en el interior mitocondrial. Este intermediario sale al citoplasma donde, gracias a la PBG-sintasa, se deshidratan dos moléculas para formar porfobilinógeno. En el siguiente paso se forma ya un anillo tetrapirrol que, catalizado por la UROgen III, forma Uroporfirinógeno III. Tras una descarboxilación este se convierte en coproporfirinógeno III, que vuelve a entrar en la mitocondria para oxidarse a protoporfirina IX por insaturación del anillo porfirínico y la transformación en vinilo de los sustituyentes propionato. Por último, la enzima ferroquelatasa es la encargada de unir un catión Fe^{2+} al interior del anillo, completando el proceso de síntesis. En la figura 2 encontramos un esquema del proceso.

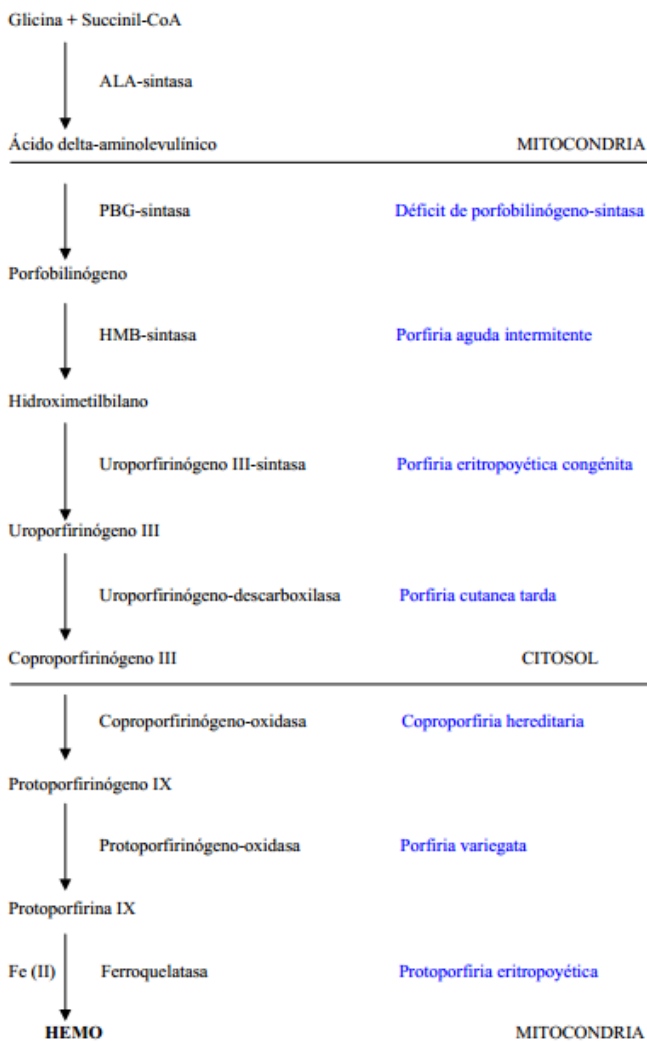


Figura. 2. Biosíntesis del grupo hemo.

Cualquier error en este proceso puede hacernos ver la cara menos agradable de las porfirinas. Las porfirias son un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por la deficiencia de una de las enzimas que participan en este proceso de biosíntesis del grupo hemo. Al interrumpirse la cadena de síntesis se produce la acumulación de precursores intermedios, que no conducen a la formación del hemo, y su expulsión por la orina y las heces. Según el órgano donde se concentre la carencia de dicha enzima las porfirias se agrupan en hepáticas, eritropoyéticas (en la médula ósea) y mixtas. Hay siete tipos diferentes de porfirias, cada una correspondiente a la falta de una de las siete enzimas que participan en el proceso por la presencia de un alelo mutado: tres hepáticas, dos mixtas y dos eritropoyéticas.

Dentro de las porfirias hepáticas se encuentran la porfiria de Doss o plumboporfiria, la porfiria aguda intermitente (PAI) y la porfiria cutánea tardía (PCT), provocadas respectivamente por la deficiencia de las enzimas ALA-

sintasa (ácido delta aminolevulínico sintasa), HMG-sintasa (hidroximetilbilano sintasa) y uroporfirinógeno-descarboxilasa. En el caso de la plumboporfiria, al truncarse el proceso en su primer paso no se acumulan precursores, por lo que hay quien no la considera una porfiria. Las dos primeras coinciden en que son generalmente asintomáticas, y en el caso de aparecer algún síntoma, estos son neuropatías, dolor abdominal y crisis de alteración del ritmo cardíaco. La porfiria cutánea tardía es la más frecuente de todas las porfirias, y se presenta con el síntoma más característico de estas enfermedades: fotosensibilidad.

Dentro de las porfirias mixtas se encuentran la coproporfiria hereditaria (CPH), debida a la carencia de la coproporfirinógeno-oxidasa, y la porfiria variegata (PV), que aparece por un déficit en la protoporfirinógeno-oxidasa. Los enfermos de estos tipos de porfiria padecen fotosensibilidad, síntomas neurológicos y en el caso de la PV suele cursar con una hepatopatía.

Por último, pueden surgir las porfirias eritropoyéticas, entre las que se encuentran la protoporfiria eritropoyética (PPE) y la más atroz de todas, la porfiria eritropoyética congénita o porfiria de Günther. La PPE es el segundo tipo de porfiria más común, en la que la enzima defectuosa es la ferroquelatasa, la enzima que interviene en el último paso de formación del hemo. Esto provoca la sobreproducción y acumulación de protoporfirina IX en glóbulos rojos, médula ósea y en el hígado. Produce fotosensibilidad leve que se presenta en forma de quemazón y enrojecimiento que remiten en un par de horas, aunque en algunos casos puede producir anemia hemolítica y daño hepático progresivo.

Pero si algún defecto de las porfirinas se lleva la palma, esa es la porfiria de Günther. En este caso, la carencia se da en la uroporfirinógeno III-sintasa y ocurre por una mutación con herencia autosómica recesiva en el gen que la codifica, perteneciente al cromosoma X. En ausencia del enzima se produce una ciclación espontánea a uroporfirinógeno I en lugar del isómero III, quien no conduce a la formación del grupo hemo. Sin embargo al ser su concentración mayor que la de la enzima anterior, el producto mayoritario es el uroporfirinógeno III. El uroporfirinógeno I lleva a la formación de porfirinas de isómero tipo I, no funcionales, que se acumulan en el organismo. Estas porfirinas, gracias a las propiedades químicas que les confiere el átomo metálico, tienen la capacidad de captar energía de la luz solar. Sin embargo, la característica que en la clorofila permite la nutrición de las plantas, en el organismo humano provoca un fenómeno no tan beneficioso. Las porfirinas sólo son capaces de mantener esta energía por un corto espacio de tiempo y después la desprenden a las células subyacentes, quemándolas. Al almacenarse estas cerca de la piel producen el mismo efecto que muchas porfirias pero magnificado: una fotosensibilidad extrema que provoca desde ampollas a erosiones y cicatrizaciones continuas y muy dolorosas. Tal es su efecto que se la conoce también como porfiria mutilante, ya

que llega a provocar destrucciones óseas y cartilaginosas, principalmente en extremidades y la cara, con el mero contacto solar. Por otro lado, no todo podía ser malo, esta misma capacidad para destruir tejidos se está utilizando para la investigación de tratamientos enfocados a la destrucción de algunos tumores. Estas porfirinas también se acumulan en los huesos y dientes, provocando una pigmentación marrón-rojiza de los mismos, fenómeno conocido como eritrodoncia, y su fluorescencia frente a radiaciones ultravioleta de mayor longitud de onda. Los síntomas no acaban ahí, también provoca anemia hemolítica por la formación de cristales porfirínicos en los eritrocitos, hipertricosis en la cara, hipo e hiperpigmentación de la piel, etc. ¡Parece increíble que el cambio de lugar de algo tan pequeño como unos átomos pueda provocar tantas alteraciones! Por desgracia no hay un tratamiento realmente eficaz para esta enfermedad al tratarse la eritropoyesis de un proceso esencial y continuo durante toda la vida. La mayoría de tratamientos son preventivos y sintomáticos, lo más importante es evitar la exposición al sol. Se ha probado la eficacia de transfusiones sanguíneas, que detienen la eritropoyesis, pero se corre el riesgo de sobrecarga de hierro, además de ser bastante engorroso, ya que el ciclo de vida de los eritrocitos es de tan sólo 120 días, por lo que habría que repetirlos continuamente. En los primeros casos documentados incluso aparece como tratamiento alternativo la ingesta de sangre, con el fin de introducir porfirinas sanas en el organismo. Todo esto, beber sangre, gente que se quema con la luz del sol... nos recuerda a algo. ¡Vampiros! A muchísimos investigadores les ha llamado la atención la similitud entre esta enfermedad y las leyendas de vampiros, pudiendo ser una de las inspiraciones de sus autores [2], [3]. Y no solo los vampiros, la hipertricosis en la cara, síntoma de algunos tipos de porfirias, también puede ser fuente de inspiración en temas de licantrópía.

Dejando las curiosidades a parte ya deberíamos ser capaces de mirar con otros ojos a estas moléculas portadoras de energía. Todo esto nos da una idea de la complejidad de los procesos metabólicos y de cómo con un pequeño error en uno de los pasos para formar una molécula que, prácticamente nos da la vida a todos los organismos vivos, puede producir efectos fatales. A partir de ahora la palabra porfirina provocará, al menos en mí, cierto respeto, tanto el respeto que se le tiene a algo que te da la vida, como el respeto a algo que te la puede complicar mucho.

REFERENCIAS

- [1] Héctor N. Torres, Héctor Carminatti y Carlos E. Cardini, "Bioquímica general", pp. 265-282.
- [2] Nick Lane, "Born to the purple: the story of porphyria", revista Scientific American, Diciembre 2002.
- [3] Nick Lane, "New Light on Medicine", revista Scientific American, Julio 2008.
- [4] Amador Schüller y Rafael Enríquez de Salamanca, "Metabolismo de las porfirinas y porfirias", Editorial: Complutense.
- [5] Enrique Battaner Arias, "Biomoléculas", Editorial: Salamanca, 1993.

- [6] J. M. Herrerías Gutiérrez, A. Díaz Belmont, M. Jiménez Sáenz, "Tratado de hepatología, tomo II", 1996.
- [7] Thomas B. Fitzpatrick, "Dermatología en Medicina General, tomo III", 7ª edición, Editorial: Panamericana, 2008.
- [8] José María Tejjón Rivera y Amando Garrido Pertierra, "Fundamentos de bioquímica metabólica", 2ª edición, Editorial: Tébar, 2008.
- [9] <http://themedicalbiochemistrypage.org/cep.php>
- [10] <http://www.a14.san.gva.es/laboratorio/web/Porfirias.pdf>
- [11] <http://noticias.exactas.uba.ar/hemo-un-grupo-clave-para-la-vida>
- [12] <http://www.porphyrria-europe.com/01-for-patients/es/Congenital-Erythropoietic-Porphyrria.asp>
- [13] <http://www.porfiria.org/>

M^aÁngeles Valera Cerdá cursa actualmente 1º en el grado en Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide. Graduada en 2012 con matrícula de honor en el I.E.S. Gran Capitán de Córdoba. En ese mismo año concluyó el Grado Medio de Piano en



el conservatorio Músico Ziryab de Córdoba. Se clasificó en las Olimpiadas Matemáticas (Asociación Thales) a nivel local, regional y nacional en 2008. Ha participado en numerosos conciertos de piano y coro y en cursos de interpretación pianística. El 19 de Febrero de 2011 participó en el XIV concurso nacional de jóvenes intérpretes ciudad de Xátiva.

La química del enamoramiento

Cristina Guillén Mendoza

Resumen—Este artículo trata el proceso al que llamamos “enamorarse” desde el punto de vista de la química, las etapas por las que pasa y sustancias químicas implicadas en ellas.

Palabras Claves— Adicción, Enamoramiento, Hormonas, Odio, Química.

1. EL PROCESO COMIENZA

Seguro que te ha pasado alguna vez, que cuando ves a una persona por primera vez comienzas a experimentar sudores, palpitaciones, tus manos tiemblan, tartamudeas y tienes eso que la gente llama “cosquilleo en el estómago”. Pues bien, siento decirte que acabas de entrar en el proceso, ese al que llamamos enamorarse, y esto indica que tienes frente a ti “a la persona idónea”, esa de la que llevas preparando un mapa mental desde la niñez. Según el sexólogo John Money los niños comienzan a desarrollar estos mapas entre los 5 y 8 años, basándose en familiares, amigos y sus experiencias. Por tanto, esto será lo que nos haga fijarnos en una determinada persona y no en otra.

2. PRIMERA ETAPA

En esta cascada de reacciones emocionales que se acaba de iniciar hay tanto descargas eléctricas por parte de nuestras neuronas, como química, debido a las hormonas y otras sustancias implicadas. Parece ser que el primer compuesto orgánico implicado es la feniletilamina, de la familia de las anfetaminas. La relación de este compuesto con el amor se dio a conocer en 1980 por los médicos Donald F.Klein y Michael Lebowitz, del Instituto psiquiátrico de Nueva York quienes descubrieron que en el cerebro de personas enamoradas había una gran cantidad de esta sustancia, y que debía estar relacionada con toda esa cascada de sensaciones que experimentamos al enamorarnos, tales como vigilia, excitación, enrojecimiento, taquicardia e insomnio. Estos científicos postularon que su producción en el cerebro puede desencadenarse por eventos tan simples como un intercambio de miradas, un roce o un apretón de manos.

La feniletilamina (FEA) es una amina aromática muy simple de fórmula $C_8H_{11}N$ (Figura 1).

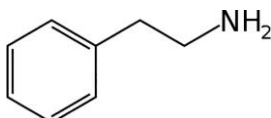


Fig. 1. Feniletilamina

Además, es un alcaloide y un neurotransmisor biosintetizado a través de la descarboxilación enzimática del aminoácido fenilalanina. La encontramos también en varios alimentos, especialmente después de una fermentación microbiana, por ejemplo en el chocolate y ciertos quesos.

Al inundarse nuestro cerebro de esta sustancia se produce la activación de una pequeñísima fábrica que hay en la base del cerebro, llamada área ventral tegmental, que se encarga de producir dopamina (Fig. 2), que es un estimulante natural que provoca cambios de humor, sensación de plenitud y euforia. Aumenta la presión arterial y es el precursor de la adrenalina y noradrenalina.

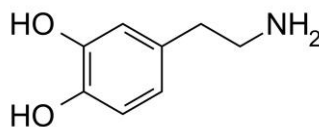


Fig.2. Dopamina

A continuación pasa a la acción la adrenalina, también llamada epinefrina, que es una hormona y neurotransmisor que aumenta la frecuencia cardíaca, contrae los vasos sanguíneos y dilata los conductos de aire. Es producida por las glándulas suprarrenales a partir de los aminoácidos fenilalanina y tirosina. Esta hormona es la que hace que se nos acelere el corazón cada vez que vemos a esa persona.

También se incrementan los niveles de oxitocina, a la que algunos llaman “la molécula afrodisíaca” ya que esta hormona está relacionada con los patrones sexuales y con la conducta maternal y paternal. Además actúa como neurotransmisor en el cerebro. Está asociada con el contacto y el orgasmo, y en el cerebro con el establecimiento de relaciones sociales y formación de relaciones de confianza y generosidad. Por ello, esta sustancia permite que se creen lazos con la pareja. Además de estas funciones, esta hormona se libera en grandes cantidades tras la distensión del cérvix uterino y la vagina durante el parto y la lactancia.

La oxitocina tiene una estructura muy similar a la vasopresina, que casualmente también está relacionada con la química del amor, y es que solo se diferencian en dos

aminoácidos: CYIQNCPLG (oxitocina) y CYFQNCPRG (vasopresina). Ambas son un nonapéptido con un puente disulfuro (Fig. 3) y son las únicas hormonas conocidas liberadas por la glándula pituitaria posterior en humanos. La vasopresina provoca vasoconstricción arterial y capilar, estimula la contracción de la musculatura intestinal y la peristalsis, y aumenta la reabsorción de agua por el túbulo renal, lo que implica una concentración de la orina y una dilución del suero sanguíneo (elevación de la presión arterial). También recibe el nombre de hormona anti-diurética (ADH).

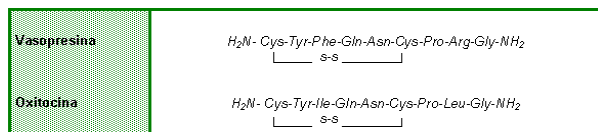


Fig. 3. Vasopresina y oxitocina similitudes.

La testosterona también está implicada en este cóctel de hormonas a cuyo bombardeo está sujeto todo el organismo, y en el que no cabe el intelecto.

Pero este estado de “imbecilidad transitoria” en palabras de Ortega y Gasset, no es para siempre, ya que no se puede mantener bioquímicamente durante mucho tiempo, pudiéndose alargar hasta unos dos o tres años aproximadamente. Es entonces cuando la actividad bioquímica decae, ya que el organismo se va haciendo más resistente a estas sustancias, y toda la locura y pasión del principio se desvanece gradualmente dándose paso a una segunda fase con un amor más sosegado, que también se basa en la química. La pareja entonces debe habituarse a un amor más tibio o separarse, viene bien ahora la frase de Jacinto Benavente: “El amor es como Don Quijote: cuando recobra el juicio es para morir”.

3. SEGUNDA ETAPA

Esta segunda etapa está liderada por las endorfinas, también llamadas hormonas de la felicidad. Sus efectos son similares a los de la morfina pero sin sus efectos secundarios negativos. Nos dan una sensación de sosiego, calma, estabilidad y felicidad. En esta fase siguen siendo importantes la oxitocina y vasopresina que estaban implicadas en establecer lazos personales.

Todo esto tiene un problema y es que se acaba. Esta química no puede durar para siempre y es por ello que la pareja debe haber establecido en este tiempo unos lazos fuertes y haberse ido conociendo, y soportándose, ya que cuando toda esta química falte ya no tendremos una pareja perfecta e idealizada sino a una persona con sus defectos y virtudes. Hay gente que dice que el amor es una droga y en parte no les falta razón. Cuando los niveles van decayendo se ha de luchar porque el proceso no sea solo químico, si no se han establecido intereses comunes y

empatía la pareja se sentirá cada vez menos enamorada y por ahí llega la insatisfacción, frustración, separación e incluso odio.

Helen Fisher, investigadora del departamento de antropología de la Universidad de Rutgers, EEUU, comentaba en una entrevista con Eduard Punset que habían descubierto que el amor y el odio son muy parecidos. Y es que como se suele decir “del amor al odio hay solo un paso” y según Fisher lo contrario a estas emociones es la indiferencia, ya que cuando odiamos concentramos nuestra atención tanto como cuando amamos. Cuando odiamos o cuando amamos nos obsesiona pensar en ello, tenemos una gran cantidad de energía, nos cuesta comer y dormir.



Fig. 4. Helen Fisher.

4. FIN DEL PROCESO

Nos centramos un poco más en esta antropóloga y profesora que ha dedicado su vida a explicar el sentimiento amoroso. Como hemos comentado, el amor romántico es una droga adictiva ya que tiene todos los síntomas: a medida que el tiempo pasa, uno quiere más y más de la persona deseada. Además es una adicción muy difícil de controlar. Para poder controlarlo lo mejor es tratarlo como lo que es, una sustancia adictiva y en el caso de ser rechazados o que el amor se acabe lo mejor es, según Helen Fisher, deshacerse de todo lo que tenga que ver con esa persona, no contactar con ella, salir y hacer cosas que nos distraigan. Eventualmente, la química del amor romántico irá amainando al igual que ocurre con el síndrome de cualquier adicción. El chocolate también puede ayudarnos en cierta medida y es que contiene una sustancia que opera químicamente de manera similar a la dopamina.

Para que nadie desespere, he de repetir la pregunta que se le hizo a esta apasionante mujer: “¿Sostiene que es posible mantener viva la llama del éxtasis romántico en parejas de larga duración?”, a lo que la profesora contestó que sí creía que era posible y para ello viene bien hacer juntos cosas excitantes, novedosas, llamativas e incluso ligeramente peligrosas, ya que estas novedades excitantes elevan los niveles de dopamina en el cerebro y son capaces de estimular los sentimientos de romance. Esto explica que las vacaciones puedan ser tan románticas.

5. CONCLUSIONES

Concluimos en que el enamorarse es un proceso que todos podemos experimentar, que llevamos preparando desde muy niños en nuestro cerebro y que a pesar del tiempo que le han dedicado los poetas, es todo química.

Aun conociendo todos "sus ingredientes y su química", como si de un postre se tratase, comerlo seguirá produciendo la misma alegría.

REFERENCIAS

- [1] Web de El Mundo. <http://www.ElMundo.es/magazine/2004/245/1086186650.html>
- [2] Web de un diccionario médico. <http://www.salud.doctissimo.es/diccionario-medico.html>
- [3] Francisco Muñoz de la Peña Castrillo, "La química del amor," <http://centros5.pntic.mec.es/ies.victoria.kent/Rincon-C/Curiosid/Rc-51>. 2002.
- [4] Web de Wikipedia. <http://www.wikipedia.org>
- [5] Eduard Punset y Helen Fisher, "La química del amor", 30/05/2007. <http://www.eduardpunset.es/427/charlas-con/la-quimica-del-amor>
- [6] Bianca P. Acevedo, Arthur Aron, Helen Fisher and Lucy L. Brown, "Neural correlates of long-term intense romantic love". Jan/2011



Cristina Guillén Mendoza. Estudiante de 1º del grado de Biotecnología

Conozcamos la codeína

Ignacio de Loyola Ruiz Alpresa

Resumen—Este artículo intentará acercar a todo el mundo uno de los alcaloides del opio más relevantes en farmacología. Sí, conozcamos la codeína, su estructura y su efecto antitusivo, y las diferencias con el efecto de la morfina.

Palabras Claves— alcaloide, antitusivo, codeína, morfina, opio.



1. INTRODUCCIÓN

Como la codeína es uno de los alcaloides del opio, empezaremos por explicar qué son los alcaloides: son compuestos heterocíclicos en cuya estructura podemos encontrar nitrógeno. Estos compuestos tienen carácter básico y producen un sabor amargo, además de una gran variedad de efectos fisiológicos dependiendo del tipo de alcaloide. Este producto podemos encontrarlo con frecuencia en semillas, hojas y superficie exterior de ciertos organismos vegetales.

Por otro lado, hemos de introducir al opio, un producto que se extrae del proceso de deshidratación del líquido lechoso que se obtiene de las semillas tempranas de amapola adormidera (*Papaver somniferum*). El contenido de morfina en el opio oscila en torno al 10%, mientras que el de codeína del 0.5%.

Una vez dicho esto, nos adentramos en la codeína. La codeína (o metilmorfina) es uno de los alcaloides más utilizados en farmacología. De entre sus puntos a destacar debemos señalar no sólo su efecto antitusivo, sino también que es un producto de tal eficacia farmacológica que se utiliza como modelo de estudio para nuevos fármacos. La codeína es el (5 α , 6 α)-7, 8- didehidro- 4, 5- epoxi- 3- metoxi- 17- metilmorfinan- 6- ol, para hacernos una idea mostramos a continuación su estructura química:

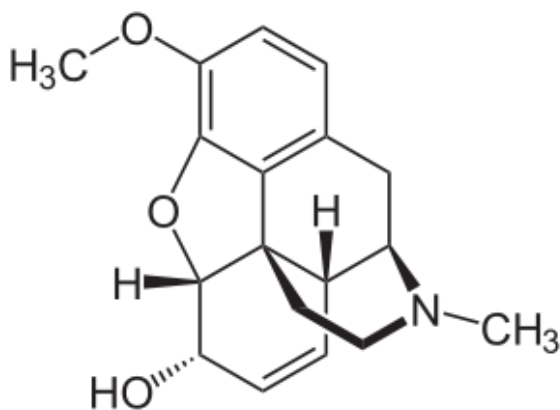


Fig. 1. Estructura química de la codeína.

Según vemos en esta figura, y como corroboraremos más adelante, la codeína puede ser considerada un éter metilo

de la morfina. Además de esta diferencia, la estructura de la codeína es similar a la de la morfina, ya que ambas poseen un anillo aromático y otros tres, a los que llamaremos B, C y D que se unen (B con C y B con D) produciendo una configuración cis.

Por último, señalaremos que, al igual que la morfina, como veremos luego, observamos tres carbonos asimétricos en la estructura de esta molécula.

2. LA CODEÍNA COMO TRATAMIENTO

2.1. Efectos según el paciente

La codeína, tal y como la encontramos en la naturaleza, es poco activa como analgésico, lo que sucede es que puede metabolizarse de forma parcial para producir morfina, cuyo poder analgésico es 10 veces mayor. Dicho poder está sujeto a la capacidad de cada paciente concreto para llevar a cabo el proceso que hemos mencionado antes: metabolizar la codeína y producir morfina, aunque un aumento de enzimas inhibitoras o inductoras puede modificar también el efecto analgésico mencionado.

Un dato a tener en cuenta es que alrededor del 10% de la codeína se transforma en morfina.

2.2. Usos y efectos beneficiosos, y otros no tanto

El principal efecto beneficioso resulta del hecho de que la codeína es un antitusígeno o antitusivo, es decir, que si se emplea en las cantidades correctas que ahora mencionaremos, es un eficaz fármaco que se emplea para suavizar la tos seca irritativa.

Para hacernos una idea, la codeína actúa sobre el sistema nervioso central o periférico con el objetivo de eliminar la tos, eso sí, hay que tener en cuenta que la tos que se debe eliminar es la no productiva, ya que también debemos contemplar la productiva, mediante la cual se expulsan sustancias que pueden almacenarse en las vías respiratorias. En este último caso no se recomienda el uso de antitusivos, por tanto de codeína.

Para un consumo responsable de este fármaco, debemos conocer que el las dosis para tratar la tos son subanalgési-

cas o en la parte inferior del intervalo de dosificación como analgésico. La dosis, vía oral, en adultos debe ser de unos 10-20 mg de 4 a 6 veces al día, aunque en caso, y esto es lo más significativo, de que estemos hablando de un preparado de acción retardada, la dosis debe ser de 50mg cada 12 horas.

En cuanto a los usos más perjudiciales que se le pueden dar a la codeína, hay que señalar que supone un riesgo considerablemente menor que la morfina a la hora de causar dependencia o adicción, aún así debemos refrescar algunos efectos como la producción de sensaciones excitantes e inquietantes en dosis medio-altas e incluso convulsiones en dosis extremadamente altas.

3. LA CODEÍNA Y LA MORFINA

3.1. Introducción a la morfina

La morfina es una sustancia sólida y cristalina, hidrófoba, es decir, insoluble en agua, aunque sí puede disolverse en disolventes orgánicos, como puede ser el éter. Como podemos observar en la estructura química (Fig.2), la morfina tiene un hidróxilo fenólico, de carácter ácido, por lo que podemos deducir que se disuelve en álcalis.

Obviando el grupo epoxi, la conformación de la morfina nos permite observar cuatro anillos diferentes, desde arriba hacia abajo: A, B, C y D. El primero es un anillo aromático. Hay que tener en cuenta que, para una correcta interacción entre la morfina y el receptor, el grupo metilo y el anillo aromático correspondiente estén en posición cis.

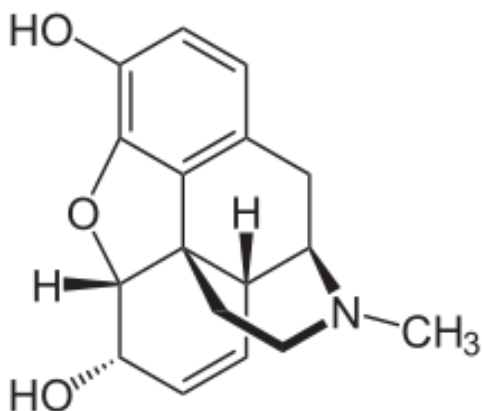


Fig. 2. Estructura química de la morfina.

Por último, es importante señalar que la unión entre anillos es cis, a saber: la unión del anillo B con el C y la del primero nuevamente con el D, por lo que subrayamos la presencia de tres carbonos asimétricos en la morfina.

3.2. Efecto antitusivo y diferencias entre ambas

Como ya se ha mencionado, uno de los usos más comunes de la codeína es el de antitusivo, aunque no es el único, la morfina también lo es. La morfina no es sólo un antitusivo más, sino que es un antitusivo mucho más efectivo y potente que la codeína. ¿Entonces, por qué se utiliza con mucha más frecuencia la codeína que la morfina como antitusivo? La respuesta es contundente, la codeína tiene infinitamente menos efectos secundarios perjudiciales que la morfina, algunos de estos efectos que sí produce la morfina y no la codeína (respetando siempre un marco de dosis moderada) son:

- Estreñimiento
- Depresión respiratoria
- Hipotensión e hipertensión
- Bradicardia
- Arritmias
- Broncoespasmos
- Visión poco nítida
- Síncope
- Euforia descontrolada
- Disforia
- Náuseas y vómitos
- Miosis
- Espasmos del tracto biliar

Parece ser que hay suficientes argumentos como para que en la balanza antitusígena entre la morfina y la codeína, esta se incline hacia la segunda, ya que pesa más la ausencia de todos esos efectos perjudiciales que la mayor eficacia en el tratamiento.

A continuación observaremos algunos ejemplos de medicamentos antitusivos comunes que contienen codeína:



Fig. 3. Medicamento 1, Paracetamol codeína level.



Fig. 4. Medicamento 2, Analgilasa.

4. CONCLUSIONES

Existe una gran variedad de alcaloides del opio, aunque en este artículo damos a conocer la codeína e intentamos presentar los más detalladamente posible la morfina, cuyas estructuras moleculares difieren solo en la sustitución de un hidroxilo por un éter metílico..

Por otro lado, se ha subrayado la importancia de la codeína en farmacología, así como su presencia entre los componentes de gran cantidad de medicamentos antitusivos.

Por último, es importante recordar las diferencias tan evidentes que existen entre los efectos que provocan la morfina y la codeína en humanos. La morfina es mucho más efectiva y potente que la codeína, pero la codeína tiene un índice de efectos secundarios perjudiciales mucho menor a los de la morfina.

AGRADECIMIENTOS

A todos mis amigos estudiantes de Farmacia, por aconsejarme sobre los manuales más apropiados para obtener la información necesaria para dar a conocer apropiadamente la codeína.

REFERENCIAS

- [1] REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, 20th edition. Traducción de EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.
- [2] Farmacología básica y clínica/Velázquez:[colaboradores], P.Lorenzo...[et al.]-18^o- ed. Buenos Aires; Madrid; Médica Panamericana, [2008]
- [3] Química. PEARSON. Prentice Hall. A. Garritz, J.A. Chamizo.
- [4] Organic Chemistry, Structure and Reactivity. Third Edition.
- [5] Compendio de psiconeurofarmacología. Alfonso Velasco Martín. F. Javier Álvarez González. ISBN: 84-86251-86-9
- [6] http://www.vademecum.es/medicamentos-principio-activo-codeina+fosfato_684_1



Ignacio de Loyola Ruiz

Alpresa es actualmente alumno de primer curso del grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

LSD, una droga con historia

Gonzalo Vigar Astillero

Resumen— La dietilamida de ácido lisérgico, también llamada LSD, es una de las drogas psicotrópicas más potentes conocidas. Supuestamente descubierta en el siglo XX, y con un abanico de efectos que no terminamos de conocer, es popular en el mercado de la droga mundial. Lo que pocos saben es que esta droga, aunque descubierta recientemente, ya ha tenido efectos en nuestra historia, y ha provocado uno de los episodios más crueles de la humanidad.

Palabras Claves— LSD, mecanismo molecular, síntesis, brujas, Salem.

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el mercado de las sustancias psicotrópicas es un mercado amplio, que mueve millones alrededor de todo el mundo aun siendo ilegal. Entre las sustancias que se mueven por estas vías encontramos una especialmente interesante, con una amplia historia a sus espaldas: el ácido lisérgico, dietilamida de ácido lisérgico o LSD, como es comúnmente conocido.

2. DESCRIPCIÓN DEL LSD

Lo primero son las presentaciones. El ácido lisérgico, LSD o LSD-25 es un derivado de la ergolina y pertenece a la familia de las triptaminas (Fig.1). Es una de las sustancias alucinógenas más potentes conocidas, ya que es capaz de generar grandes alucinaciones. En su forma original es incoloro, inodoro y con un ligero sabor amargo, y en la sociedad se suele administrar en terrones de azúcar o impregnado en pequeños papeles con la dosis recomendada para una persona adulta. Aun siendo una droga muy potente, no tiene efectos de toxicidad y la muerte derivada

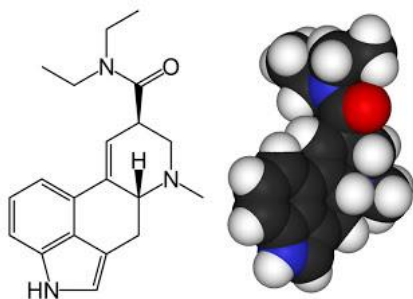


Fig. 1. Estructura molecular del LSD.

del consumo de este se debe a que los sujetos se vuelven hipersensibles, es decir, tienen más tendencia a enfadarse o a entristecerse, por lo que hay personas que llegan a realizar intentos de suicidio bajo los efectos de esta droga.

2.1 El descubrimiento

La fecha de su descubrimiento data de la primera mitad del siglo XX, en Suiza. Allí, el químico Albert Hofmann (Fig.2) trataba de crear productos sintéticos a partir de los alcaloides del grupo ergolina, presentes en el hongo "Claviceps purpurea", comúnmente conocido como "cornezuelo del centeno", para su uso medicinal y tera-

péutico. Tras conseguir sintetizar la ergobasina, se centró en la síntesis de los derivados del ácido lisérgico. El vigésimoquinto derivado resultó ser el LSD, de ahí que en ocasiones se le denomine LSD-25. Debido a su similitud con la nicetamida, un analéptico conocido, se creyó que podría tener efectos similares, pero los experimentos no demostraron nada de lo que se intuía, por lo que su estudio fue abandonado. No obstante, en 1943 Hofmann volvió a trabajar sobre este compuesto, y en el proceso de recristalización de una muestra de tartrato de LSD empezó a marearse y en su diario describió lo que se correspondería con los efectos de la droga, en los que tuvo sensación de embriaguez con visiones caleidoscópicas.

Tres días después, el día conocido como "día de la bicicleta", el doctor Hofmann ingirió voluntariamente 250 µg de LSD, y pidió a su ayudante que le acompañara en el trayecto en bicicleta hasta su casa. Esta dosis, como poste-

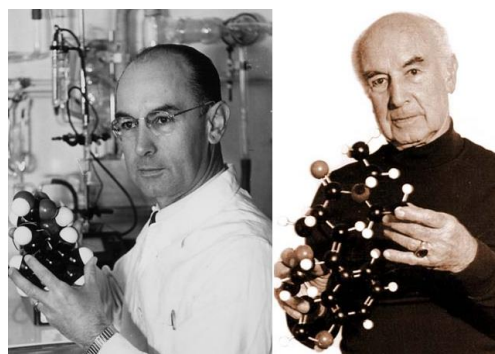


Fig. 2. Albert Hofmann, el descubridor del LSD.

riormente se sabría, es muy alta para este psicotrópico debido a su potencia, por lo que el doctor sufrió efectos como una distorsión de la realidad, pensando que no avanzaba en la bicicleta aun yendo rápido. En su casa, un médico lo revisó y no encontró variaciones físicas importantes, exceptuando la dilatación de las pupilas. Al día siguiente, el doctor no encontró ningún síntoma físico que demostrara que había estado bajo los efectos de la droga, sin embargo notó que sus sentidos estaban en un estado "potenciado" durante todo el día.

Tras esto, se realizaron varios estudios y se propuso el

LSD como un posible fármaco para la psicoterapia, además de utilizarse como vía de estudio para la esquizofrenia durante la década de los 60 en EEUU, ya que se pensaba que los efectos que tenía el LSD simulaban esquizofrenia, al verse alterados los mismos receptores en ambos casos: el de glutamato y la serotonina. Sin embargo, debido al consumo irregular de esta sustancia se tramitó una ley que penalizase su posesión y comercialización, aun habiendo compañías farmacéuticas, como los laboratorios Sandoz, que la vieran como un medicamento prometedor. Finalmente, fue ilegalizada en 1968, aunque posteriormente se han abierto vías de investigación usando esta droga.

3. ACTIVIDAD Y EFECTOS EN EL ORGANISMO

Pasemos a hablar de su actividad. Como ya hemos dicho, esta molécula actúa sobre el sistema nervioso central. Tiene unos efectos extremadamente variables, ya que en

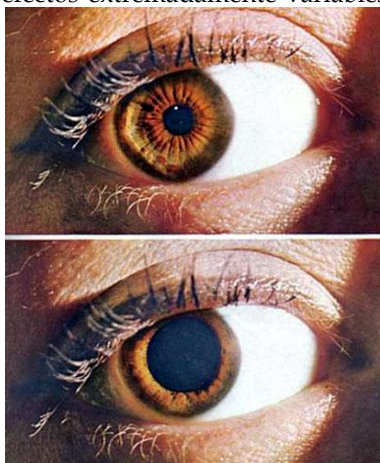


Fig. 3. Efecto de dilatación de pupilas.

estos interviene tanto el tamaño de la persona, como su personalidad y el estado de ánimo.

Los primeros efectos suelen notarse a la media hora de su consumo, y tiene una duración total de entre 6 y 11 horas, presentando el punto cumbre de sus efectos a la media hora de notar los primeros efectos. Entre los efectos encontramos dilatación de las pupilas (Fig.3), erizamiento del vello, alteración del ritmo cardíaco, temblores; además de los que no podemos apreciar como las alucinaciones y la susceptibilidad emocional que padece el consumidor.

3.1. Mecanismo molecular de actuación

El mecanismo molecular es simple, ya que se comporta como un antagonista en el receptor de 5-HT (5 - hidroxitriptamina), el receptor de serotonina. Este receptor también tiene un efecto sobre la liberación de muchos neurotransmisores, como el glutamato, por lo que tiene un gran efecto sobre el sistema nervioso. El efecto del LSD hace que se disminuya la actividad espontánea del sistema nervioso central, pero que aumente la actividad por estímulos periféricos, lo que provoca las alteraciones de la percepción que se sufren, sobre todo de la visual. El efecto sobre este receptor desaparece a los días de abstinencia,



Fig. 4. Papel impregnado de LSD, con una dosis baja. Es una de las formas de consumo más habitual.

además de con el uso de fármacos como el diazepam, que puede reducir los efectos de la droga aunque no afecta a las acciones directas del psicotrópico.

Hablando de las dosis no letales podemos diferenciar dos tipos: dosis bajas o "de rave" y dosis altas o "psicodélicas". Las primeras las encontramos con cantidades entre 0,010 mg y 0,015 mg, mientras que las segundas se encuentran entre 0,025 mg y 0,05 mg, pudiendo causar pérdida temporal de identidad. No se han establecido dosis letales, aunque ha habido un caso de muerte por ingesta de 0,1 mg de LSD.

4. EL LSD EN LA HISTORIA

Con respecto a su historia, se cree que su precursor natural, la ergolina, tiene una relación con la "caza de brujas". Esta caza de brujas tuvo lugar en la época comprendida entre los años 1400 y 1800 en partes de América y

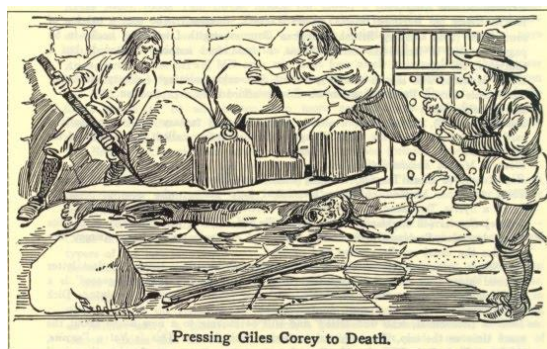


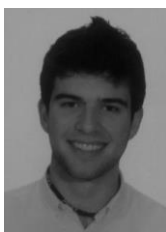
Fig. 5. En los juicios de Salem tuvo lugar la muerte de muchas mujeres debido a la ingesta involuntaria de esta sustancia.

Europa. Una de las posibles causas que desembocó en esta "caza" fue la intoxicación con *Claviceps purpurea* o cornezuelo. En esa época, el centeno era un cereal muy usado debido a su alta resistencia, y se utilizaba para la realización de pan. En caso de que el centeno usado estuviera infectado por este hongo, la ingesta del pan produciría efectos como dolor, convulsiones, temblores y alucinaciones, que podrían interpretarse como brujería. Un ejemplo muy claro fueron los juicios de Salem, los cuales tuvieron lugar en el verano fresco y lluvioso del año 1692, factores que promovieron el crecimiento de este hongo.

En conclusión, el LSD tiene una amplia historia, con antepasados oscuros, y un aparente potencial en usos terapéuticos, aunque no se continuara su investigación. También cabe destacar que fue uno de los elementos del movimiento hippie, que tuvo lugar en la década de los 60.

REFERENCIAS

- [1] <http://geosalud.com/drogas/lsd.htm>
- [2] <http://es.wikipedia.org/wiki/LSD>
- [3] [http://www.ecured.cu/index.php/Dietilamina_del_%C3%A1cido_lis%C3%A9rgico_\(LSD\)](http://www.ecured.cu/index.php/Dietilamina_del_%C3%A1cido_lis%C3%A9rgico_(LSD))
- [4] <http://www.setasalucinogenas.com/lsd.html>
- [5] <http://www.mind-surf.net/drogas/lsd.htm>
- [6] <http://www.psicofarmacos.info/?contenido=drogas&farma=lsc-dietilamida-de-acido-lisergico-acido-tripi-tripa-trip-viaje>
- [7] <http://www.drugabuse.gov/publications/drugfacts/hallucinogens-lsd-peyote-psilocybin-pcp>
- [8] http://www.ehowenespanol.com/cuales-causas-caza-brujas-info_198293/
- [9] <http://www.las-drogas.com/lsc>
- [10] http://es.wikipedia.org/wiki/Receptor_de_5-HT



Gonzalo Vigar Astillero actualmente es estudiante de primer año en el grado en Biotecnología en la universidad Pablo de Olavide.

Lo que no sabemos del kriptón

Fernando Rivero Pino

Resumen— El kriptón es un gas incoloro, inodoro e insípido, que a pesar de denominarse “gas noble” por su configuración electrónica -término asociado a la no reactividad-, es el primer gas en orden del periodo que posee un valor de electronegatividad. Es una de las razones por las que sus aplicaciones son múltiples.

Palabras Claves— Aplicaciones, Ficción, Isótopos, Reactividad, Kriptón.

1. INTRODUCCIÓN

Gran parte de la población asocia el término Kryptón al planeta ficticio de las historias del famoso comic Superman, sin embargo este elemento, a pesar de ser un gran desconocido, es muy importante para la vida cotidiana dada su gran variedad de aplicaciones. El kriptón fue descubierto en 1898 en un residuo de la evaporación del aire líquido y durante 23 años se definió el metro como la longitud de onda de la radiación emitida por el isótopo Kr-86 en sustitución de la barra patrón.

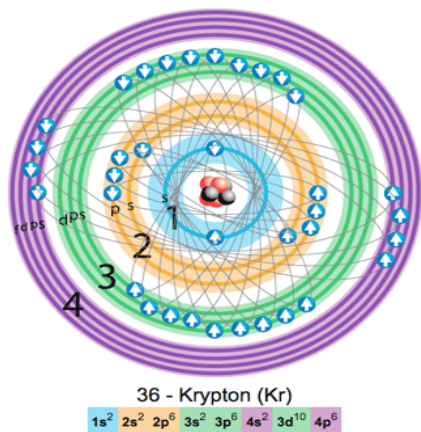


Fig 1. Representación de la construcción del átomo.

El kriptón es un gas raro en la atmósfera terrestre, del orden de 1 ppm, se puede encontrar entre gases volcánicos, en aguas termales y en diversos minerales en pequeñas cantidades. Curioso es que existe un contenido de 0,3 ppm de kriptón en la atmósfera del planeta Marte. Por su parte, la explosión del planeta Kryptón hubo producido un elemento radioactivo, -característica que comparte con el verdadero kriptón- llamado kryptonita.

2. APLICACIONES

El kriptón es muy caro, y su uso está muy limitado,

pero aun así tiene multitud de aplicaciones. Debido a su elevado peso atómico, impide la pulverización de un filamento atravesado por un corriente, por lo que se usa para el llenado de lámparas eléctricas y aparatos electrónicos de diferentes tipos (figura 2), Destacan las mezclas de kriptón con neón o argón para los fluorescentes.



Fig 2. Tubo de descarga lleno de kriptón puro.

El hecho de que el alcance de la luz roja que emite sea mayor que el de la ordinaria, -incluso en condiciones climatológicas adversas-, lo hace muy apropiado en sistemas de iluminación de aeropuertos. Además aparece en lámparas incandescentes de filamento de tungsteno de proyectores de cine y se usa en flashes fotográficos para fotografía de alta velocidad, en la detección de fugas de contenedores sellados y para excitar el fósforo de fuentes de luz sin alimentación externa de energía.

Un láser de fluoruro de kriptón (figura 3) es un tipo especial de láser de excímero cuya utilidad es la fotolitografía en el ultravioleta profundo para la fabricación de dispositivos microelectrónicos (circuitos integrados de semiconductores o chips).

El isótopo Kr-81 es radioactivo y escapa con facilidad de las aguas superficiales, así, se ha usado para datar aguas subterráneas antiguas. Por su parte, la proporción de Kr-85 ha aumentado por la desintegración del uranio y el plutonio, y se ha utilizado para análisis químico.



Fig 3. Láser de fluoruro de kriptón.

Para propósitos de práctica puede considerarse un gas inerte, aunque se conocen compuestos formados con flúor, como el KrF_2 .

Puede formar clatratos con el agua al quedar sus átomos en la red de moléculas de agua. También se han sintetizado clatratos de hidroquinona y fenol, que se emplean para encerrar y almacenar el $Kr-85$. Además se ha informado de la existencia de la sal de un oxoácido de kriptón y se han identificado los iones moleculares $ArKr^+$ y KrH^+ .

Respecto a la kryptonita, en abril de 2007 se descubrió un mineral en Serbia cuya composición es muy similar, diferenciándose únicamente en la presencia de flúor. Tal es la influencia de dicha ficción sobre la realidad, que desde primavera de 2007 la jadarita está expuesta a la vista del público bajo una luz color verde que lo asimila a la piedra ficticia que causa la muerte de Superman.



Fig 4. Comparación de jadarita y kryptonita

En conclusión, el kriptón es un gas que como tal no es tóxico y es químicamente inerte, salvo excepciones, así, se considera un asfixiante simple, ya que su inhalación en concentraciones excesivas puede producir mareos, náuseas, vómitos, pérdida de consciencia y muerte, por causas que impiden el autorrescate.

3. ACTUALIDAD

Es muy difícil encontrar noticias recientes sobre este elemento dada su rareza, pero podemos destacar que en Corea del Sur se buscan sin éxito elementos radiactivos en el aire desde que en el noreste del país se realizó el tercer ensayo atómico de la zona con una potencia de entre 6 y 7

kilotones, (un poco más de un tercio comparado con la bomba de Hiroshima, aproximadamente). Así, tras completarse el análisis de 23 muestras de ambiente tomadas en tierra, mar y aire, no se han detectado rastros de materiales radiactivos como el xenón o el kriptón.

Volviendo a la parte de ficción ya orientado al mundo real, el astrofísico Neil deGrasse Tyson, director del Planetario Hayden y conocido divulgador científico en los EEUU hará un cameo en el cómic para explicarle a Superman nada menos que la ubicación exacta en la que estuvo Krypton, al que le atribuye haber estado en la constelación Corvus, a unos 27,1 años luz de la Tierra y orbitando alrededor de la enana roja LHS 2520, que existe realmente.

Referencias

- [1] Fig 1. <http://www.microsiervos.com>
- [2] Web The Dynamic Chemistry Textbook. <http://chemwiki.ucdavis.edu/>
- [3] Wikipedia (español e inglés)
- [4] <http://es.chemistry.wikia.com/>
- [5] <http://es.scribd.com/>
- [6] <http://www.lenntech.es/>
- [7] Universidad autónoma de Madrid <http://www.uam.es/>
- [8] <http://elementos.org.es>
- [9] <http://www.ecured.cu>
- [10] <http://pse-mendelejew.de/>
- [11] <http://www.supermanjavilivares.net>
- [12] <http://www.latercera.com>
- [13] <http://enciclopedia.us.es/>
- [14] <http://meioambiente.culturamix.com/>
- [15] Diccionario enciclopédico Espasa



Fernando Rivero Pino Estudiante de primer curso del grado en biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide

Isótopos del agua permiten la determinación de los recursos hídricos de una planta

José María Bacia-Piedras

Resumen—Es importante conocer la composición que presenta el agua en deuterio y ^{18}O para discernir cuáles son las fuentes explotadas por las plantas de una determinada región.

Palabras Claves—Agua, Deuterio, Oxígeno, Plantas, Xilema.



1. INTRODUCCIÓN

Desde hace algo más de cien años que apareciera la Ecología como ciencia propia, muchos científicos han querido desclasificarla como tal. En principio debido que al estudiar organismos vivos y sus relaciones entre ellos y con el medio ambiente difíciles de modelar. Es decir no acata unas reglas sencillas por las cuales se pueda realizar una inducción de lo que va a acontecer.

Pero la complejidad de un sistema no debe hacer que sea descartada para ser estudiada empíricamente. Es este breve artículo, se va a intentar demostrar como en las últimas décadas ciencias que se creían tan dispares como la Química y la Ecología, han unido fuerzas para obtener ramas del tipo Química Ambiental, en la cual la sinergia entre ambas permite conocer un sistema más a fondo.

En concreto vamos a ver como cada tipo de planta con sus diversos portes, tamaños y fisiología no son tan fáciles de comprender como algunas veces se piensan. Y como el mero hecho de tomar el agua, dos plantas que vivan muy cercas entre ellas o incluso son de la misma especie, pueden captarlo de muy diversas fuentes (lluvias, escorrentías, acuíferos, etc.). Y todo fue posible gracias a conocimientos de química analítica que, hace casi dos siglos, demostraron que no todos los átomos de un elemento no tienen por qué tener el mismo número de masa atómica. Es decir, a partir de la discriminación de isómeros se puedo conocer que tipo o tipos de aguas toma una planta.

2. LOS ISÓTOPOS

2.1. Concepto Básico de Isótopo

No todos los átomos que forman un elemento son idénticos, sino que pueden existir átomos con las mismas propiedades químicas pero diferente masa, a esto es a lo que se les denomina isótopo. Según Thomson [1] los isótopos de un mismo elemento se discriminan por su número másico, ya que dichas diferencias se deben a que poseen un número distinto de neutrones.

2.2. Los Isótopos del Agua

Por deducción a lo comentado en el subapartado anterior,

no todos los átomos de hidrógeno y oxígeno que conforman las moléculas de agua son iguales.

El hidrógeno presenta dos isótopos estables de los cuales el protio (^1H) es el más común (99'98), seguido de lejos por un 0'015 % el deuterio (^2H o D) (Hagemann et al., [2]). Respecto al oxígeno hay se diferencian tres isótopos estables, el de mayor abundancia el ^{16}O (99'762 %) y luego también hay ^{18}O (0'2 %) y ^{17}O (0'0004 %) (Gurov et al., [3]).

Aunque hay otros isótopos los descritos en el párrafo anterior son los más comunes en las aguas naturales. Éstos se pueden combinar al azar, según su frecuencia o probabilidad, existiendo diferentes tipos de agua. La más abundante es la ordinaria ($^1\text{H}_2^{16}\text{O}$). Al resto se les conoce por el nombre de aguas semipesadas, $^1\text{H}^2\text{HO}$ y $^1\text{H}_2^{17}\text{O}$ (ambas con un 0'04 %); o pesadas, $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$ (0'2 %) y $^2\text{H}_2^{16}\text{O}$ (0'03 %) (Mosin e Ignatov, [4]).

Las diferencias más notables de las aguas pesadas frente al agua común son las que derivan de las propias masas moleculares y por consiguiente de sus diferentes densidades (Gil-Martínez, [5]).

2.3. Factores que Influyen en la Composición Isotópicas

Respecto a las aguas, que suelen ser útiles en estudios de isótopos, que se intercambian entre el medio y los seres vivos hay que destacar las aguas pesadas.

Como se ha citado en el apartado anterior el agua está compuesta por varios isótopos que se comportan de diferente manera según su masa atómica, esto lleva a que según la procedencia del agua presente una diferencia en su composición isotópica. Los factores que principalmente afectan a la composición del agua se deben a procesos que ocurren en el ciclo hidrológico destacando la evaporación y el posicionamiento latitudinal y altitudinal [6].

Respecto a la evaporación, hay que recordar que la presión de vapor cuantifica cómo de rápido se evapora o condensa el agua. Así las moléculas de agua normales (de menor peso) tienen mayor presión de vapor, es decir, se evaporan más deprisa (y por el mismo sentido condensan después) que las aguas pesadas. Posteriormente se discutirá sobre la composición de las distintas fuentes de aguas para las plantas terrestres (apartado 3).

La altura y latitud también influye en el sentido de la relación existente entre la temperatura atmosférica y las precipitaciones, que cuando se den en cotas a mayor altura presentarán menores concentraciones de isótopos pesados (aguas, isotópicamente, más ligeras).

El estudio de Gonfiantini et al. [7] Además de dichos factores, otros tantos otorgan matices al agua: la mezcla con agua marina, la mezcla con otras masas acuosas de distintos contenidos químicos y/o i o isotópicos. En las aguas del suelo también influyen la disolución de sales y lixiado de minerales, el intercambio químico e isotópico con la matriz de un acuífero y otro proceso que atañe a las aguas subterráneas tienen que ver con el transcurso de mucho tiempo de residencia en una formación geológica, en la que hay ultrafiltración en membranas arcillosas.

2.4. Métodos de Cuantificación

Las variaciones absolutas en la abundancia natural de la mayoría de los isótopos son muy bajas, por ende suelen indicarse las variaciones relativizándolas (Ecuación 1) respecto a un estándar internacional. Para el caso que nos atañe, es utilizado el estándar es el agua oceánica VSMOW (Viena-Standard Mean Ocean Water, Tabla 1, Hagemann et al. [2], Baertschi [8]):

TABLA 1
COMPOSICIÓN ISOTÓPICA ESTÁNDAR
DEL AGUA DE OCÉANO

Isótopo	ppm
$^1\text{H}_2^{16}\text{O}$	997680
$^1\text{H}_2\text{HO}$	320
$^1\text{H}_2^{18}\text{O}$	2000

La expresión utilizada se denomina firma isotópica (δ) y se expresa en partes por mil (‰), la cual es calculada como:

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

Donde R indica el cociente del isótopo pesado sobre el isótopo liviano, R_{muestra} y $R_{\text{estándar}}$ se refieren a la abundancia de D/H (u $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) en la muestra y en el estándar, respectivamente. Un valor δ más positivo indica que la muestra tiene una mayor proporción del isótopo pesado en comparación al estándar.

3. EL AGUA Y LAS PLANTAS

Bien sea en los sistemas naturales como en explotaciones agrícolas existe un entramado de especies vegetales que interactúan con uno de sus mayores factores limitantes, el agua. Este recurso puede proceder de diferentes orígenes. Dawson [9] diferenció lluvia, la propia agua del suelo, la escorrentía (incluyendo el deshielo) o las aguas subterráneas (sean acuíferos superficiales o profundos).

En estudios del ecosistema del tipo flujos de masa, competencias (inter o intraespecíficas); o en informaes

sobre impactos ambientales o remediación de una contaminación es muy importante conocer cuales son las masas de agua que las plantas utilizan. Para esto entran en juego el análisis de la composición isotópica del agua de las plantas. Flanagan y Ehleringer [10] demostraron que en el proceso de absorción de agua a través de las raíces no hay ninguna discriminación respecto a los isótopos del agua, es decir, el agua tomada por las plantas es idéntica respecto a los isótopos del agua externa. Con lo cual, un análisis del agua transportado a través del xilema de las plantas (sistema encargado del transporte de agua y sales minerales en estos organismos) indicará que fuente hidrológica está explotando. En este sentido se sabe que las aguas subterráneas son más ricas en isótopos pesados ($\delta > \text{VSMOW}$), mientras que las aguas de lluvia presentan una mayor proporción de agua común ($\delta < \text{VSMOW}$) [6].

3.1. Métodos de Medición

Medir los isótopos estables es algo relativamente fácil, mediante un espectrómetro de masas, en la cual casi no se da una metodología no destructiva, pues sólo se necesita pequeña muestra de tejido (tallo, hoja o raíz) para el análisis. El espectrómetro de masas separa átomos y moléculas cargadas con base en su movimiento en campos magnéticos o eléctricos y consiste de cuatro partes centrales que Hoefs [11] definió: el sistema de entrada, la fuente de iones, el analizador de masas y el detector de iones.

4. CASOS PRÁCTICOS

4.1. Dimorfismo sexual mediante el uso del agua

El análisis integrado por Álvarez-Cansino et al. [12] sobre variables fotosintéticas y las relaciones con el agua mostraron un efecto según el género de la planta *Corama alba* en la respuesta fisiológica al mediodía. La composición isotópica de oxígeno del agua del xilema mostró una falta de dependencia respecto del nivel freático del acuífero durante el período de sequía. Se indican diferencias intersexuales en la captación de agua. Las hembras llegaron a capas del suelo más profundas, lo que sugiere mecanismos de compensación por su mayor esfuerzo reproductivo, dando nuevas evidencias fisiológicas de dimorfismo dentro de esta especie leñosa.

4.2. Caso Práctico en Agricultura

Con todo lo recopilado hasta ahora podemos decir que los valores de δ de las aguas pesadas se puede utilizar para investigar la fuente de agua utilizada por los cultivos, incluso en diferentes etapas de su desarrollo; y así entender la contribución relativa de una fuente de agua al crecimiento de dicho cultivo (Cong-zhi [13]).

4.3. Modelizaje de las eras climáticas pasadas

Dawson et al. [14] discuten sobre sus resultados en el contexto de las investigaciones a largo plazo, en el cual se utilizan los valores de δ deuterio que aparecen en la celulosa o el nitrato de celulosa de la corteza de los árboles para la reconstrucción climática e incluso inferir el uso del agua o

patrones de distribución pasada de la vegetación leñosa.

5. CONCLUSIONES

Los isótopos estables constituyen una herramienta cuya metodología se ha vuelto accesible para los fisiólogos en las últimas tres décadas. Desde entonces diversos trabajos de campo y de laboratorio han permitido el desarrollo de su uso como trazador y en la elaboración de modelos que integran desde procesos fisiológicos en las plantas a nivel celular, hasta los intercambios entre la planta y su medio, recorriendo incluso ciclos globales de productividad marina versus terrestre. Estos estudios han permitido a su vez abarcar escalas de tiempo desde el presente hasta miles de años atrás con las reconstrucciones climáticas y como marcadores de cambios en los ciclos hidrológicos y de carbono.

Además, la gran diversidad morfológica y fisiológica de las plantas augura un aumento en las investigaciones con los isótopos estables del hidrógeno y oxígeno en los próximos años, especialmente en países con alto número de especies vegetales, donde las interrelaciones entre la gran diversidad de formas de vida, y entre éstas y su ambiente, pueden ser inspeccionadas con mayor precisión con la metodología de los isótopos estables.

REFERENCIAS

- [1] J.J. Thomson "Further experiments on positive rays", *Philosophical Magazine*, serie 6, vol. 24, no. 140, pp. 209-253, 1912.
- [2] R. Hagemann, G. Nief y E. Roth, "Absolute isotopic scale for deuterium analysis of natural waters. Absolute D/H ratio for SMOW", *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, vol. 22, pp. 712-715, 1970.
- [3] Y.B. Gurov, D.V. Aleshkin, M.N. Berh, S.V. Lapushkin, P.V. Morokhov, V.A. Pechkurov, N.O. Poroshin, V.G. Sandukovsky, M.V. Tel'kushev, B.A. Chernyshev, T.D. Tschurenkova, "Spectroscopy of superheavy hydrogen isotopes in stopped-pion absorption by nuclei", *Physics of Atomic Nuclei*, vol. 68, no. 3, pp. 491-497, 2004.
- [4] O.V. Mosin, I. Ignatov, "Separation of Heavy Isotopes Deuterium (D) and Tritium (T) and Oxygen (^{18}O) in Water Treatment", *Clean Water: Problems and Decisions*, vol. 3, no. 4, pp. 69-78, 2011.
- [5] F. Gil-Martinez, "El Agua", *Elementos de Fisiología Vegetal. Relaciones hídricas. Nutrición. Transporte. Metabolismo*, ed. Mundi-Prensa, pp. 9-41, 1995.
- [6] Miliarium.com Ingeniería Civil y Medio Ambiente. <http://www.miliarium.com/Proyectos/Nitratos/isotopos/IsotoposAgua/IsotoposAgua.asp#efectoaltitud>
- [7] R. Gonfiantini, L. Araguas Araguas, "Los isotopos ambientales en el estudio de la intrusión marina", *TIAC'88. Tecnología de la Intrusión en Acuíferos Costeros*, Almuñécar (Granada, España), pp. 135-190, 1988.
- [8] P. Baertschi, "Absolute ^{18}O content for standard mean ocean water", *Earth and Planetary Science Letters*, vol. 31, pp. 341-344, 1976.
- [9] T.E. Dawson, "Water sources of plants as determined from xylem-water isotopic composition: perspectives on plant competition, distribution, and water relations", J.R.Ehleringer, A.E. Hall, Farquhar G.D. eds, *Stable Isotopes and Plant Carbon-*

Water Relations, Academic Press Inc, San Diego USA, pp. 465-496, 1993.

- [10] L.B. Flanagan, J.R. Ehleringer, "Stable isotope composition of stem and leaf water: application to the study of plant water-use", *Functional Ecology*, vol. 5, pp. 270-277, 1991.
- [11] J. Hoefs, *Stable Isotope Geochemistry*, 5ª. ed. Springer, Berlín, 2004.
- [12] L. Álvarez-Cansino, M. Zunzunegui, M.C. Díaz-Barradas y M.P. Esquivias, "Physiological performance and xylem water isotopic composition underlie gender-specific responses in the dioecious shrub *Corema album*", *Physiologia Plantarum*, vol. 140, pp. 32-45, 2010.
- [13] Z. Cong-zhi, Z. Jia-bao, Z. Bing-zi, H. Hui y H. Ping, "Stable Isotope Studies of Crop Carbon and Water Relations: A Review", *Agricultural Sciences in China*, vol. 8, no. 5, pp. 578-590, 2009, doi:10.1016/S1671-2927(08)60249-7.
- [14] T. E. Dawson y J.R. Ehleringer, "Isotopic enrichment of water in the "woody" tissues of plants: Implications for plant water source, water uptake, and other studies which use the stable isotopic composition of cellulose", *Geoschimica et Cosmochimica Acta*, vol. 57, pp. 3487-3492, 1993.



José María Barcia-Piedras es licenciado en grados en Biología por la Universidad de Sevilla en 2011. Con un máster oficial en biotecnología ambiental, industrial y alimentaria por la Universidad Pablo de Olavide. Desde 2003 hasta 2009 trabaja como alumno interno en el grupo GECONAT (Ecología, citogenética y recursos naturales) de la Universidad e Sevilla. En 2010 comienza como asistente honorario en el grupo G-Costas (Ecofisiología de plantas costeras) donde actualmente prepara su tesis doctoral en fitodesalinización.

BIOINFORMÁTICA



Uso de GeneMania para el análisis de expresión genética

David Cabrera López

Resumen—El análisis de expresión genética juega un papel muy importante en las investigaciones, ya que permite el diagnóstico de la vulnerabilidad hacia determinadas enfermedades hereditarias basándose en la genética, y puede ser también utilizado para determinar la ascendencia de una persona. Vamos a proceder a identificar algunos análisis de expresión genética donde se usen la base de datos de GeneMania.

Palabras Clave—Análisis de Expresión Genética, Biología Computacional, GeneMania, Predicción de Proteínas, Propagación Etiqueta

1. INTRODUCCIÓN

El uso de base de datos de genes está muy extendido en todos los estudios relacionados con la bioinformática, en este artículo procederemos al estudio de GeneMania, y posteriormente hablar sobre el uso de el en los distintos campos del análisis de expresión genética en humanos. Me gustaría hablar sobre dos artículos, [1], [2], en los cuales se desarrollan algunas investigaciones sobre el análisis de expresión genética.

Junio, 2013

2. GENEMANIA

A continuación se procederá a la explicación de GeneMania [3], así como algunos resultados al utilizarlo y algunas conclusiones.

Existen muchos métodos computacionales eficaces para la función de predicción de proteínas que integran múltiples fuentes de datos de genómica y proteómica para hacer inferencias acerca algunas funciones de proteínas, tales como [4] y [5]. El más exacto de estos algoritmos tiene largos tiempos de ejecución. GeneMania es tan preciso como los métodos principales y requiere de un tiempo de cálculo menor.

2.1. Métodos

El algoritmo GeneMania consta de dos partes: un algoritmo, basado en regresión lineal, para el cálculo de una sola red de asociación funcional y un algoritmo de propagación de la etiqueta para la predicción de la función del gen.

A continuación se describen las dos partes del algoritmo de GeneMania individualmente.

En primer lugar se encuentra el algoritmo de propagación de etiqueta en GeneMania. Se predice la

función del gen a partir de la red compuesta usando un algoritmo de propagación de etiqueta del campo gaussiano [6]. Los algoritmos de propagación etiqueta, al igual que la mayoría de los algoritmos de predicción de función, asignan un puntaje a cada nodo de la red, llamado "valor discriminante", que refleja el grado de la asociación que tiene el nodo a la lista de semillas que define la función dada.

Por otro lado está la integración de redes de GeneMania. Se plantea el problema de la predicción de la función de genes como un problema de clasificación binaria y se intenta de resolver el problema mediante la asignación de un peso positivo que refleja su utilidad en la predicción de una función dada. Una vez que se calculan los pesos, se construye un tejido asociativo de la función específica tomando el promedio ponderado.

El algoritmo de regresión lineal regularizado que GeneMania utiliza es, por diseño, robusto a la inclusión de redes irrelevantes y redundantes [7]. Esta propiedad es especialmente importante cuando las fuentes de datos no pueden ser controlados cuidadosamente - por ejemplo, en un servidor web que descarga automáticamente los nuevos datos de repositorios web o permite a los usuarios contribuir con sus propios datos.

2.2. Conclusión

GeneMania [3] es tan preciso, o más que algunos algoritmos de predicción de la función de genes en la levadura y el ratón. Se logra la máxima precisión usando una versión de este algoritmo que requiere entre 10 y 15 segundos de tiempo de cálculo en una computadora de escritorio moderno con código MATLAB poco optimizado. Con la optimización, se espera que GeneMania será aún más rápido.

Este algoritmo combina automáticamente varias fuentes de datos de entrada lo suficientemente rápido

para ser empleado en un servidor web. La aplicación de GeneMania está generando un sitio web, <http://morrislab.med.utoronto.ca/prototype>, donde los usuarios pueden definir sus propias categorías de función, proporcionando una lista de genes, y recibir las predicciones en cuestión de segundos.

3. USOS DE GENEMANIA EN DISTINTOS TIPOS DE ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GENÉTICA

A continuación vamos a desarrollar distintos usos de GeneMania en dos análisis de expresión genética, el primero de ellos está basado en la co-expresión diferencial a través de la vida humana [1] y el segundo trata sobre la expresión diferencial en genes localizados en la región del síndrome de Down en cerebros humanos [2].

3.1. Análisis de expresión diferencial de genes localizados en la región crítica del síndrome de Down del cerebro humano [2]

En la neurología genómica se intenta construir mapas de expresión espacial de genes de las distintas estructuras cerebrales con el fin de relacionarlos con ciertas neuropatologías. En este artículo se analizaron los perfiles de transcripción de 8 genes localizados en la región crítica del síndrome de Down en diferentes estructuras del cerebro humano. Se determinó una expresión diferencial de estos genes en las estructuras del lóbulo frontal, el lóbulo límbico y en los núcleos centrales.

El cerebro de los humanos, es el órgano más complejo, está compuesto por cientos de subtipos diferentes de neuronas, en el que todas ellas difieren en la expresión de genes [8], [9]. Además, el cerebro es "plástico", muestra una gran capacidad de cambio a lo largo de la vida.

Se determinó que la complejidad de la transcripción de ARNm excede a la de otros tejidos. Una forma de enfocar esta problemática, es el uso de herramientas computacionales, que permitan extraer información de niveles de expresión de genes. En el apartado de siguiente se mostrará la metodología a realizar para el dicho análisis de expresión y aquí es donde entra en juego GeneMania.

Para la construcción de una red de interacción de las proteínas codificadas por los distintos genes DSCR [10], se utilizó como herramienta la plataforma bioinformática de la base de datos GeneMania. A partir de esta información se construyó una red de interacción de proteínas con otras proteínas humanas consignadas en las diferentes bases de datos.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo empleando los programas Statgraphics Centurion XVI <http://www.statgraphics.com> y Systat 13 <http://www.systat.com>.

3.2. Análisis de la co-expresión diferencial a través de la esperanza de vida humana [1]

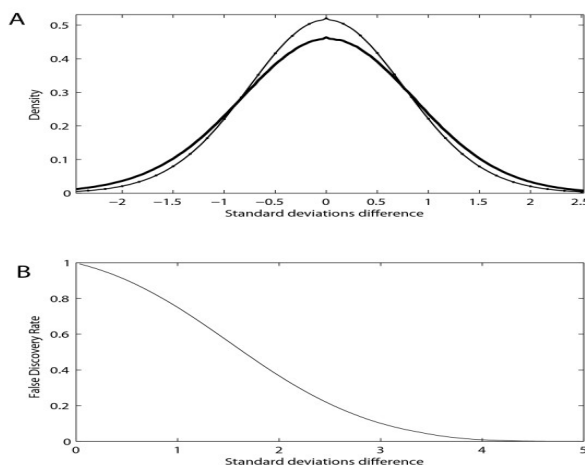
Un patrón de coexpresión diferencial consiste en un conjunto de genes que tienen sustancialmente diferentes niveles de coherencia de sus perfiles de expresión. Aquí se presenta un método para el análisis de los cambios en la coexpresión a través de múltiples grupos ordenados con el tiempo.

Para la metodología se procedió en primer lugar a una agrupación de datos y una normalización de los mismos. Una vez obtenida la agrupación de datos se realizó una transformación de Haar. Se dividieron en cuatro grupos de edad (prenatal, niño / joven, adulto, adulto mayor) para centrar el estudio en diferentes grupos. La base de Haar consta de 4 valores. Los cuatro valores de Haar son el producto escalar de los vectores con expresión de datos agrupados de la edad. Posteriormente, se realizó la transformación Haar para asegurar los resultados de la coexpresión y aquellos valores fuera del rango del 5% fueron retirados.

A continuación, se sometieron los valores obtenidos a una evaluación estadística, para determinar la significación de un modelo de co-expresión diferencial y estimar las tasas de falso descubrimiento. Por último, antes de obtener los resultados, se realiza una validación de predicción de la función de genes, esto se realizó mediante las tecnologías de GO [11].

Una vez obtenido los resultados, se procede a un análisis estadístico para determinar si los patrones de co-expresión diferencial que se observaron podrían ocurrir por casualidad, esto fue realizado por la herramienta bioinformática de base de datos de GeneMania [3].

En esta imagen podemos apreciar las propiedades estadísticas de los coeficientes Haar. En la figura B podemos apreciar la tasa de falso descubrimiento, que como observamos a lo largo del análisis va decreciendo.



4. CONCLUSIONES

En este artículo se ha analizado dos trabajos, el primero de ellos estaba basado en la co-expresión diferencial a través de la vida humana [1] y el segundo trataba sobre la expresión diferencial en genes localizados en la región del síndrome de Down en cerebros humanos [2]. En ellos se aprecia el uso de la base de datos de GeneMania [3] para la ejecución de los mismos. Podemos deducir, que las bases de datos con información de Genes son muy importantes para los estudios Bioinformáticos. Entre las bases de datos citadas tenemos la de Gene Ontology [11], una de las más importantes en el mundo de la biología, y por otra parte tenemos GeneMania [3], la cual está dedicado este artículo. Desde un punto de vista informático, destacar que lo más importante para una base de datos es la rápida accesibilidad de los datos, así también, como la disponibilidad de los mismos, esto es vital para los grandes estudios biológicos. Y por tanto, la herramienta bioinformática de base de datos GeneMania [3], es útil para la realización de estudios de expresión genética, ya que es capaz de realizar predicciones en las funciones de genes más rápido que otros algoritmos utilizados para tal fin.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al Dr. Norberto Diaz-Diaz por ofrecerme la posibilidad de escribir para la revista MoleQla. Por otra parte agradecer a mis padres y compañeros de clase que me han apoyado y ayudado en la realización de este artículo.

REFERENCIAS

- [1] Jesse Gillis and Paul Pavlidis. A methodology for the analysis of differential coexpression across the human lifespan. *BMC Bioinformatics*, 10(1):306, 2009.
- [2] JULIO CÉSAR MONTOYA VILLEGAS, ÁNGELA PEÑA GONZÁLEZ, JOSÉ MARÍA SATIZÁBAL SOTO, and FELIPE GARCÍAVALLEJO PH.D d*. Análisis sistémico in silico de la expresión diferencial de genes localizados en la región crítica del síndrome de down (dscr) en el cerebro humano. *Revista Med*, 20, Enero 2012.
- [3] Sara Mostafavi, Debajyoti Ray, David Warde-Farley, Chris Grouios, and Quaid Morris. Genemania: a real-time multiple association network integration algorithm for predicting gene function. *Genome Biologic*, 9, 2008.
- [4] EM Marcotte, M Pellegrini, MJ Thompson, TO Yeates, and D Eisenberg. A combined algorithm for genome-wide prediction of protein function. *Nature*, 402:83–86, 1999.
- [5] L Pena-Castillo, M Tasan, CL Myers, H Lee, T Joshi, C Zhang, Y Guan, M Leone, A Pagnani, W Kyu Kim, C Krumpelman, W Tian, G Obozinski, Y Qi, S Mostafavi, G Ning Lin, GF Berriz, FD Gibbons, G Lanckriet, J Qiu, C Grant, Z Barutcuoglu, DP Hill, D Warde-Farley, C Grouios, D Ray, JA Blake, M Deng, MI Jordan, and WS Noble. A critical assessment of mus musculus gene function prediction using integrated genomic evidence. *Genome Biol*, 9(Suppl 1):S2, 2008.
- [6] X Zhu, Z Ghahramani, and J Lafferty. Semi-supervised learning using gaussian fields and harmonic functions. *Proceedings of the Twentieth International Conference on Machine Learning: August 21-24, 2003; Washington, DC, USA*, pages 912–919, 2003.
- [7] DP Lewis, T Jebara, and WS Noble. Support vector machine learning from heterogeneous data: an empirical analysis using protein sequence and structure. *Bioinformatics*, 22:2753–2760, 2006.

- [8] Stevens CF. Neuronal diversity: too many cell types for comfort? *Curr Biol*, 1998.
- [9] Michael C Oldham, Genevieve Konopka, Kazuya Iwamoto, Peter Langfelder, Tadafumi Kato, Steve Horvath, and Daniel H Geschwind. Functional organization of the transcriptome in human brain. *Nat Neurosci*, 11(11):1271–1282, 11 2008.
- [10] Winnie S. Liang, Eric M. Reiman, Jon Valla, Travis Dunckley, Thomas G. Beach, Andrew Grover, Tracey L. Niedzielko, Lonnie E. Schneider, Diego Mastroeni, Richard Caselli, Walter Kukulski, John C. Morris, Christine M. Hulette, Donald Schmechel, Joseph Rogers, and Dietrich A. Stephan. Alzheimer's disease is associated with reduced expression of energy metabolism genes in posterior cingulate neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(11):4441–4446, 2008.
- [11] Michael Ashburner, Catherine A. Ball, Judith A. Blake, David Botstein, Heather Butler, J. Michael Cherry, Allan P. Davis, Kara Dolinski, Selina S. Dwight, Janan T. Eppig, Midori A. Harris, David P. Hill, Laurie Issel-Tarver, Andrew Kasarskis, Suzanna Lewis, John C. Matese, Joel E. Richardson, Martin Ringwald, Gerald M. Rubin, and Gavin Sherlock. Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 2000.



David Cabrera López actual alumno de Grado en Ingeniería Informática en Sistemas de Información en la universidad Pablo de Olavide, Sevilla. Comenzó sus estudios en esta universidad en el año 2010. Actualmente, se encuentra en el tercer curso del grado. Alumno de la asignatura de Bioinformática, impartida por el profesor Norberto Diaz-Diaz.

Análisis de Genes en Cytoscape

Mariano López Jiménez

Resumen—En este artículo se hablará sobre el análisis de redes de genes utilizando para ello la herramienta Cytoscape. Se describirán algunos plugins que podemos emplear, así como detallar algunas de las ventajas que dichos plugins nos proporcionan en los análisis de redes de genes.

Palabras Clave—Cytoscape, VistaClara, ICTnet, MCODE

1. INTRODUCCIÓN

Cytoscape es una aplicación de software libre creada en el Instituto de Biología de Sistemas en Seattle en 2002, nos permite la visualización y el análisis de redes de interacción molecular. Permite a los programadores escribir plugins[1] que tienen acceso a las estructuras de datos básicos y ventanas de Cytoscape para hacer una gran variedad de operaciones.

2. HERRAMIENTA

Cytoscape[2] es una aplicación de software de bioinformática diseñada para la visualización y análisis de redes de interacción molecular. Aunque fue diseñado originalmente para la investigación biológica, ahora es una plataforma general para el análisis complejo y la visualización de redes de genes. Cytoscape es compatible con muchos formatos de archivos de anotación y red estándar como: SIF (Simple Interaction Format), GML, XGMML, BioPAX, PSI-MI, SBML, OBO y Gene Association. Además proporciona un sistema básico para la integración y la visualización de los datos. Podemos complementar este sistema mediante el uso de plugins. Algunas de las características principales del programa son:

- Filtra la red para seleccionar subconjuntos de interacciones.
- Personaliza la visualización y el análisis de la red utilizando plugins.
- Encuentra módulos de subredes activas.
- Vista panorámica para navegar por la red.
- Redes de distribución en dos dimensiones.

3. PLUGINS

3.1. VistaClara

VistaClara[3] es un plugin para Cytoscape que proporciona una forma más sencilla de visualizar y analizar genes y expresiones de proteínas en una red. Fue diseñado originalmente como una herramienta independiente para analizar interactivamente los datos de expresión de genes de varias condiciones

experimentales. Dado que la clasificación por una única fila o columna es a menudo ineficaz para el análisis de datos de una expresión de genes, VistaClara permite ordenar las filas utilizando medidas de similitud (euclidiana o Pearson) entre filas enteras. Así pues sustituye los típicos rectángulos del mapa de calor por círculos rellenos (llamados "manchas de tinta"), cuyos diámetros son proporcionales a los valores representados. Si el diámetro va más allá de un umbral crítico, la celda en la que aparece el círculo se llena completamente. De este modo, nos facilita el análisis de los datos ya que podemos ver más fácilmente el nivel de participación de un determinado gen dentro de la red. A continuación se presenta una figura donde podemos apreciar un ejemplo de las citadas "manchas de tinta":

	Name	Degree	cds15_50	cds15_70	cds15_80	cds15_90	cds15_100	cds15_110	cds15_120	cds15_130	cds15_140	cds15_150	cds15_160	cds15_170	cds15_180	cds15_190	cds15_200	cds15_210	cds15_220	cds15_230	cds15_240	cds15_250	cds15_270	cds15_290
70	HTB1	5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
71	HTA2	8	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
72	HTA1	7	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
73	HRP1	2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
74	HHT2	4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
75	HHF2	4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

La integración de VistaClara directamente en Cytoscape permite varias interacciones en la red:

- Mapeo de las condiciones experimentales
- Estudio de la dinámica del sistema
- Navegación coordinada

También proporciona una característica para ver todos los datos de expresión de forma simultánea. Cada nodo se muestra en un gráfico de barras que representa todos los valores de expresión para ese nodo.

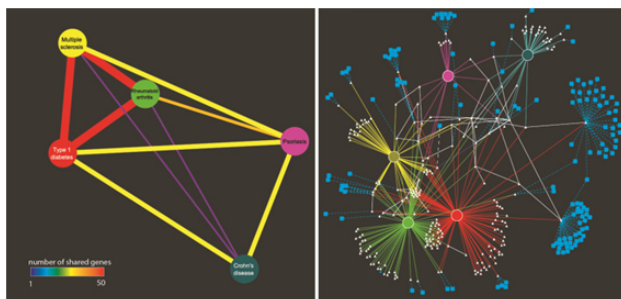
3.2. ICTnet

ICTnet[4] (Integrated Complex Traits Networks) es un plugin de Cytoscape de código abierto. Integra diferentes fuentes de datos para permitir la creación automática y sistemática de redes con hasta cinco capas de información ómicas:

- Asociación fenotipo-SNP
- Interacción proteína-proteína
- La enfermedad de los tejidos
- El tejido del gen

■ Relaciones gen-medicamento

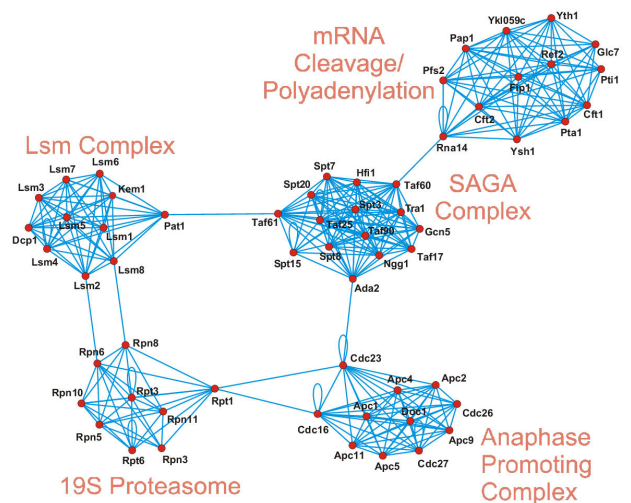
Proporciona una interfaz fácil de usar para buscar, integrar, visualizar y analizar las redes biológicas a nivel del genoma. En ICTnet, el nivel básico de análisis es la relación de enfermedades genéticas. A través de este plugin, el usuario puede conectarse a la base de datos y buscar múltiples fuentes de datos para su posterior análisis, ya sea usando el propio plugin o la herramienta Cytoscape. Una característica útil es la capacidad de crear una red de similitud en cualquier red existente utilizando cualquier tipo de nodo. Por ejemplo, un usuario podría crear rápidamente una red gen-enfermedad con 5 enfermedades autoinmunes comunes: Diabetes tipo 1 (T1D), Artritis reumatoide (AR), Esclerosis múltiple (EM), Enfermedad de Crohn (CD) y Psoriasis (PS). A continuación se presenta una figura donde podemos apreciar la representación para el análisis que nos proporciona ICTnet para la red descrita anteriormente.



El usuario tiene la opción de descargar directamente sólo los genes asociados, así como sus vecinos, en diferentes grados de separación.

3.3. MCODE

MCODE[5] (Molecular Complex Detection) es un plugin para Cytoscape que utiliza un novedoso algoritmo de agrupamiento que detecta regiones densamente conectadas dentro de grandes redes de interacción proteína-proteína, que pueden representar complejos moleculares. Tiene ventaja sobre otros métodos de agrupación de gráficos dirigidos, ya que tiene un modo que permite el análisis de las agrupaciones que nos interesan sin tener en cuenta el resto de la red, y nos permite examinar la conexión entre los distintos clúster (relevante para las redes de proteínas). También puede ser utilizado para examinar la conectividad y las relaciones entre complejos moleculares. A continuación se presenta una figura donde podemos apreciar una agrupación entre distintos clúster sin tener en cuenta el resto de la red. De este modo MCODE nos facilita el análisis de los datos ya que podemos ver más fácilmente la conexión entre los distintos clúster.



Opera en tres etapas para filtrar o añadir proteínas en las agrupaciones resultantes según ciertos criterios de conectividad:

- Ponderación de vértice
- Complejo de predicción
- Post-procesamiento

MCODE requiere un conjunto de interacciones biomoleculares y un conjunto de complejos moleculares, determinados experimentalmente. Actualmente, la fuente más grande de dichos datos es para las proteínas de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

4. CONCLUSIONES

Cytoscape ofrece innumerables opciones para visualizar y analizar redes de genes. Es una gran herramienta ya que permite a los programadores desarrollar nuevos plugins, lo que hace que sea una de las mejores herramientas existentes para la visualización y análisis de redes. Existen infinidad de plugins para Cytoscape además de los descritos en este artículo, la característica principal de cada uno de los plugins descritos y que los diferencia del resto es:

- VistaClara nos proporciona una forma más flexible de visualizar y analizar genes y expresiones de proteínas en una red.
- ICTnet nos proporciona una interfaz fácil de usar para buscar, integrar, visualizar y analizar las redes biológicas a nivel del genoma.
- MCODE nos permite realizar el análisis de las agrupaciones que nos interesan sin tener en cuenta el resto de la red así como examinar la conexión entre los distintos clúster.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al equipo docente responsable de la asignatura de Bioinformática en la Universidad Pablo de Olavide, sabiendo que jamás encontraré la forma de agradecer su constante apoyo y confianza, espero que comprendan que mis ideales,

esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados en ustedes. Con un testimonio de eterno agradecimiento por los conocimientos adquiridos sobre la aplicación de las nuevas tecnologías en los campos de la Genómica y Proteómica, con los cuales he logrado aumentar mis competencias en el ámbito laboral, que es para mí la mejor de las herencias.

REFERENCIAS

- [1] PengLiangWang: Cytoscape Plugin Tutorial(2008).
- [2] Institute of Systems Biology: Cytoscape(2012).
- [3] Stevens Creek Blvd., Blue Oak Software: VistaClara: an expression browser plug-in for Cytoscape(2008).
- [4] Lili Wang, Pouya Khankhanian, Sergio E Baranzini, Parvin Mousavi: iCTNet - A Cytoscape plugin to produce and analyze integrative complex traits networks(2011).
- [5] Gary D Bader , Christopher WV Hogue : An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks(2003).



Mariano López Jiménez recibió el título de Técnico Superior en Administración de Sistemas Informáticos por el I.E.S Martínez Montañez de Sevilla en 2009. Actualmente cursa el tercer curso correspondiente al Grado de Ingeniería Informática en Sistemas de la Información en la universidad Pablo de Olavide.

Visualización de genes en Cytoscape

Casiano Acemel Torres

Resumen—El siguiente artículo trata sobre la visualización de redes de genes en Cytoscape mediante el uso de plugins. También se comentan las ventajas y para qué sirven los plugins que se describen a continuación.

Palabras Clave—Cytoscape, ClueGo, Clustermaker, Genoscape, plugin.

1. INTRODUCCIÓN

A continuación se introduce al lector al programa Cytoscape. Esta herramienta tiene algunas funcionalidades que en conjunto con plugins pueden tener múltiples beneficios en el ámbito de la bioinformática. A continuación se describen algunos de esos plugins y sus características.

2. CYTOSCAPE

Cytoscape es un programa de software libre bioinformático que nos permite la visualización de redes de interacción molecular [1]. Cytoscape permite cargar datos genéticos desde diversos formatos, proyectar e integrar conjuntos de datos, establecer y realizar el análisis avanzado y modelado usando aplicaciones Cytoscape. Estas aplicaciones de Cytoscape que se pueden descargar desde la página y que a continuación van a ser descritas en el artículo son denominadas plugins. Estos plugins son de utilidad para los científicos ya que les permite visualizar y analizar grandes redes interrelacionadas, montar estas redes a partir de tablas y formularios y calcular estadísticas sobre la red de genes.

Cytoscape ha ido evolucionando con el paso de los años. Fue creado en el Instituto de Biología de Sistemas en Seattle en 2002. Posteriormente, ha sido desarrollado por un consorcio internacional de desarrolladores de código abierto. Cytoscape fue inicialmente publicado en julio de 2002 (v0.8), la segunda versión (v0.9) fue en noviembre de 2002 y v1.0 fue lanzado en marzo de 2003. La Versión 1.1.1 es la última versión estable de la serie 1.0. La versión 2.0 fue lanzada inicialmente en 2004. Cytoscape 2.5 fue lanzado en julio de 2007 y posteriormente se lanza la versión 2.8.3, en mayo de 2012. La última versión lanzada actualmente es la versión 3.0, esta versión supone un paso adelante a la hora de poder modificar las visualizaciones de los resultados.

3. USO DE PLUGINS

3.1. ClueGO

ClueGO es un plugin de Cytoscape que permite los visualizar datos biológicos de grandes grupos de genes que tienen una serie de características en común y cuya función es facilitar la interpretación biológica de esos datos [2]. ClueGO puede ser utilizado para la visualización de las características que tienen en común una lista de genes, o para la comparación de las anotaciones funcionales de dos clusters.

Dependiendo de las fuentes de ontología que seleccionemos, ClueGO puede analizar o comparar clusters por diferentes criterios de filtro que el usuario puede aplicar. ClueGO permite importar conjuntos de genes ya sea desde un archivo de texto o a partir de una red creada desde Cytoscape. Una vez que se han importado los datos, ClueGO crea en primer lugar una matriz binaria con los términos seleccionados y sus genes asociados.

Posteriormente se crea una nueva matriz basándose en la anterior. Esta matriz es corregida con estadísticas kappa para determinar la fuerza de asociación entre las redes de genes. Por último, la red creada representa las condiciones de los nodos que están vinculados basándose en un nivel de puntuación kappa predefinido [3].

Una vez comparados los dos grupos de genes, ClueGo permite cambiar la visualización de los grupos a través de una serie de condiciones que podemos introducir. De este modo, nos facilita la interpretación de los datos ya que podemos ver fácilmente que grupos tienen en común la serie de condiciones que nosotros marcamos anteriormente.

A continuación se presenta una figura donde se puede apreciar la visualización de grupos de genes agrupados por características.

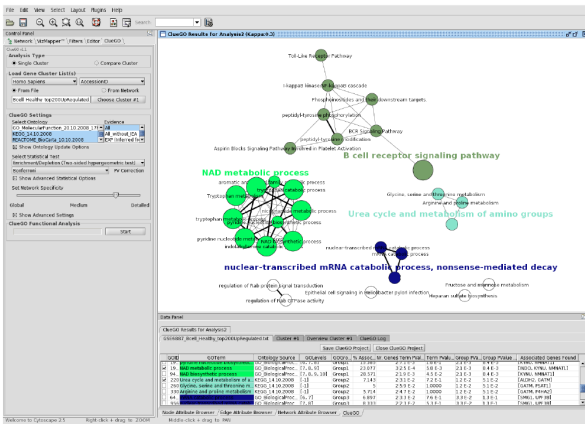


Fig 3.1

3.2. Clustermaker

ClusterMaker es un plugin de Cytoscape que implementa varios algoritmos de agrupación y unifica las diferentes técnicas de clustering y las muestra en una única interfaz.

ClusterMaker es el primer plugin de Cytoscape que implementa una gran variedad de algoritmos de agrupamiento y visualizaciones[4], incluyendo implementaciones de agrupación jerárquica, dendrogramas, mapa de calor, k-means, k-medoid, SCPS, AutoSOME y MCL.

El objetivo principal de clusterMaker es que dado un conjunto de datos, clustermaker se encarga de encontrar clusters de genes que co-expresen entre ellos. Luego proporciona a los usuarios la posibilidad de generar y visualizar clusters de múltiples maneras e interactivamente permite explorar los resultados obtenidos de varias formas. Otra de las ventajas que tiene clusterMaker es que los datos que genera pueden ser usados por el plugin BiNGO[5] para ver el enriquecimiento en terminos GO (Gene ontology) de los genes que hemos encontrado coexpresados en clusterMaker.

En la siguiente figura se puede apreciar el agrupamiento de los valores en un dendrograma a partir de unos datos importados desde clusterMaker.

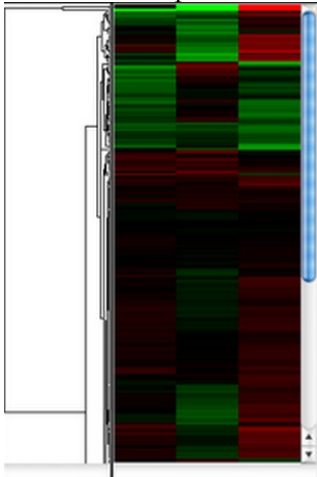


Fig 3.2

3.3. Genoscope

Genoscope es un plug-in de Cytoscape que permite visualizar conjuntos de datos de las bases de datos de GenoScript (una base de datos transcriptómica) y de KEGG [6]. Genoscope fue desarrollado por biólogos para poder recuperar datos estadísticamente analizados desde GenoScript o de KEGG, poder integrar estos datos a Cytoscape y una vez integrados poder modificar la visualización de estos datos para destacar el nivel y la importancia de los valores de la expresión genética.

Genoscope permite a los usuarios navegar por la base de datos de GenoScript y seleccionar datos transcriptómicos para ser importados en Cytoscape. Cuando se importan los datos de los pathways de KEGG, los elementos se filtran con el fin de mantener sólo aquellos nodos correspondientes a genes o enzimas. Por otra parte, los nodos de genes adicionales se crean cuando los datos de KEGG representan una enzima o una proteína, con el fin de integrar los datos de expresión de genes individuales.

Usando Genoscope, los pathways de la base de datos de KEGG se pueden mostrar como las redes de Cytoscape. Cada pathway se representa como un nodo. Genoscope visualiza estos datos y resalta cambios de expresión génica y su significación estadística. Estos gráficos de Cytoscape, pero que han sido producidos por Genoscope, se pueden visualizar, distribuir, modificar y guardar de diferentes maneras utilizando las múltiples opciones de Cytoscape.

A continuación se muestra en la imagen una red de genoscope visualizada desde la interfaz de Cytoscape donde ya están creados los nodos y han sido agrupados por funcionalidades.

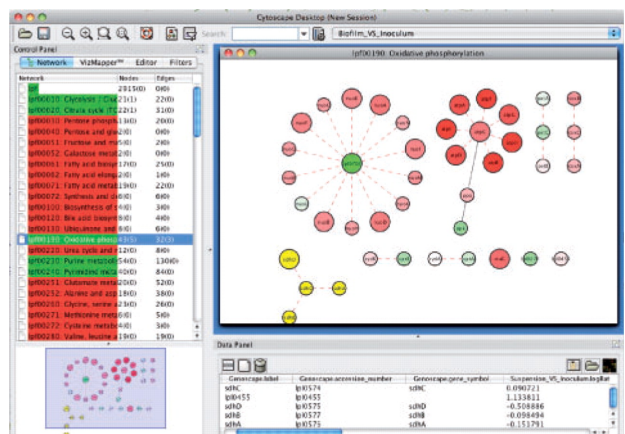


Fig 3.3

4. CONCLUSION

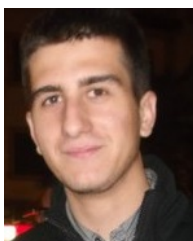
Aunque se haya descrito la funcionalidad de 3 plugins en el artículo, Cytoscape posee en la actualidad más de 100 plugins. Además el usuario puede colaborar a enriquecer aun más Cytoscape haciendo sus propios plugins ya sea desde cero o modificando el código fuente que se proporciona en la página GitHub, lo cual pienso que es un gran punto a favor ya que permite a Cytoscape que pueda expandirse gracias a la colaboración de los usuarios y hacer de ella una herramienta muy completa para el mundo científico.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaria agradecer a la universidad Pablo de Olavide, así como a los coordinadores de la asignatura de Bioinformática Norberto Díaz Díaz y Francisco Gómez Vela la posibilidad de poder hacer un artículo y que sea publicado en una revista a nivel nacional.

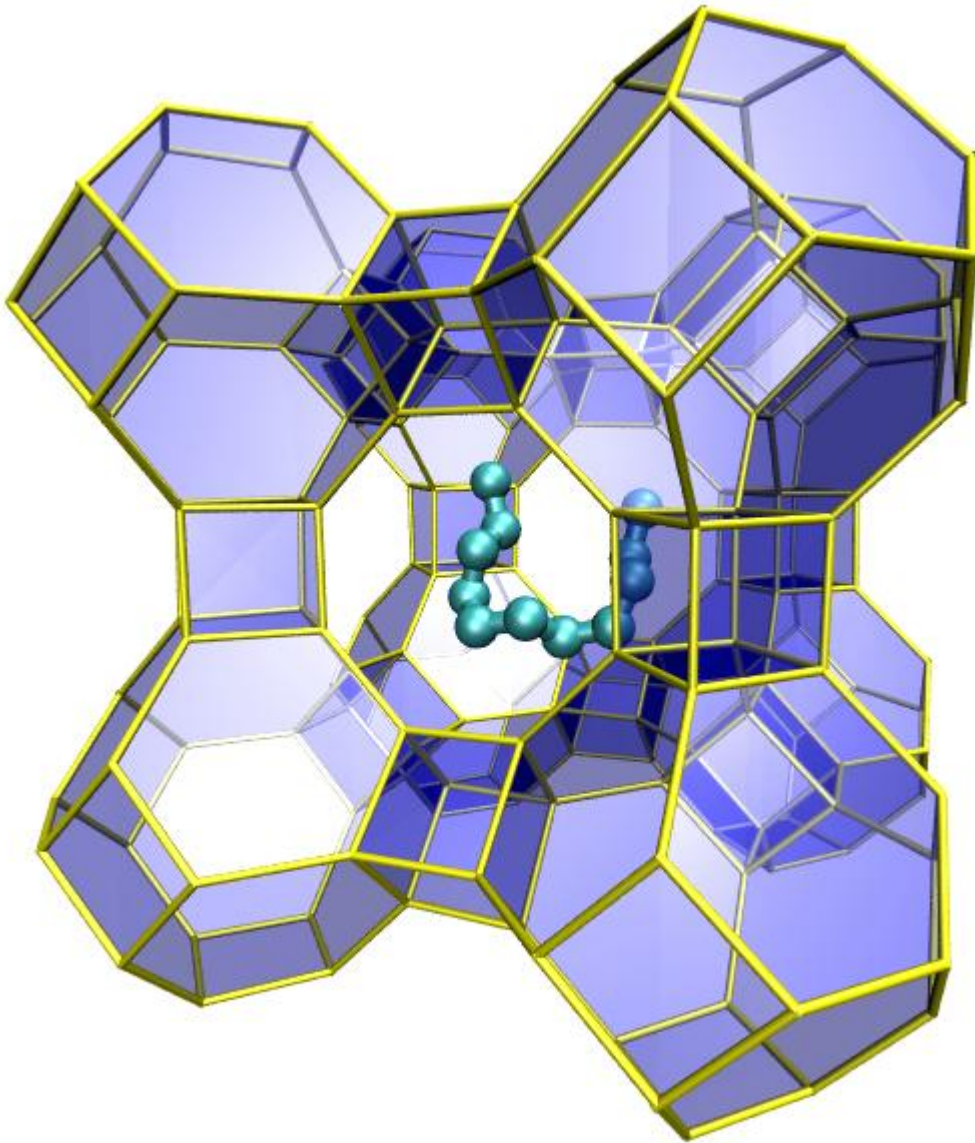
REFERENCIAS

- [1] Samad Lotia, Jason Montojo, Yue Dong, Gary D. Bader, Alexander R. Pico, Cytoscape App Store".
- [2] Gabriela Bindea, Bernhard Mlecnik, Hubert Hackl, Pornpimol Charoentong, Marie Tosolini, Amos Kirilovsky ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks (2009)".
- [3] Bindea G*, Mlecnik B*, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, Fridman WH, Pages F, Trajanoski Z and Galon J. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology annotation networks". Bioinformatics(2009)
- [4] John H Morris, Leonard Apeltsin, Aaron M Newman, Jan Baumbach, Tobias Wittkop ClusterMaker: a multi-algorithm clustering plugin for Cytoscape". (2011)
- [5] Maere S, Heymans K, Kuiper M: "BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks". (2005)
- [6] Mathieu Clément-Ziza, Christophe Malabat, Christian Weber, Ivan Moszer, Tero Aittokallio "Genoscape: a Cytoscape plug-in to automate the retrieval and integration of gene expression data and molecular networks". (2009)



Casiano Acemel Torres cursa actualmente el tercer curso correspondiente a la carrera de Ingeniería en Sistemas de Información de la universidad Pablo de Olavide.

MOLEQLA CRISTALINA



Descubriendo como sienten las células

Claudia Millán

Resumen—El premio Nobel de Química del año 2012 fue concedido a Brian Kobilka y Robert Lefkowitz por sus estudios en los receptores asociados a proteínas G. La familia de proteínas que estos receptores comprende está involucrada en muchos procesos fisiológicos y supone la diana de más del 40% de los medicamentos que se desarrollan hoy en día. En este artículo describiremos como llegaron a aislarlos y comprenderlos y porqué la cristalografía jugó un papel fundamental en el proceso.

Palabras Claves—Cristalografía Macromolecular, Farmacéutica, Nobel, Química, Receptores de Membrana.

1. INTRODUCCIÓN

El premio Nobel en Química en el año 2012 fue otorgado a Robert Lefkowitz y Brian Kobilka por sus estudios sobre los receptores asociados a proteínas G (GPCRs).

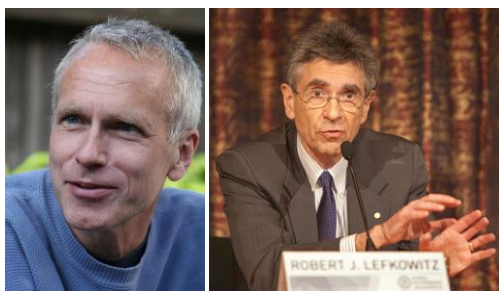


Fig. 1. A la derecha, Brian Kobilka, de la Stanford University School of Medicine, y a la izquierda, Robert Lefkowitz, del Howard Hughes Medical Institute y el Duke University Medical Center

Los GPCRs permiten a las células percibir su medio y responder a estímulos. De la misma manera que nuestro cuerpo segrega adrenalina en respuesta a un estímulo de riesgo y nos altera fisiológicamente, nuestras células son capaces de producir y recibir información a través de compuestos químicos. Su mecanismo de acción fue determinado gracias a la cristalografía de rayos X, y es por eso que es una interesante historia que explicar en *MoleQla Cristalina*.

2. EL ENIGMA DEL RECEPTOR

2.1. Primeros pasos

Los primeros indicios que apuntaban a estos receptores celulares los encontramos a finales del siglo XIX [1], [2]. En esta época se empiezan a investigar los efectos de la adrenalina en el cuerpo humano. Dada la sospecha de que podrían actuar a través de los nervios, algunos de los experimentos intentaron, en ratones, paralizar el sistema nervioso y analizar el efecto que esto tenía, pero la respuesta seguía siendo la misma: en una situación de ries-

go, a los animales se les aceleraba el corazón, dilataban las pupilas... Esto les llevó a pensar que las células quizás tuvieran algún tipo de receptor que respondiera a las sustancias químicas presentes en el medio. Además, también experimentaron, una vez la adrenalina fue aislada, con la introducción de la misma en el medio externo (la sangre) y observaron que las células modificaban su comportamiento. Esto de nuevo indicaba que algo tenía que detectar en el medio externo dichas señales y transmitirlas al interior celular. Aquello que fuera, debía, además, ser capaz de atravesar la membrana celular, formada por lípidos.

Los años pasaron, y aunque no se aislaban los receptores, ya se producían medicamentos específicos para estimular o inhibir los efectos de la adrenalina. Uno de los pioneros en este trabajo, Raymond Ahlquist, estudió en los años 40 el efecto de la adrenalina y compuestos similares en diferentes órganos. Esto le condujo a clasificar los receptores en dos tipos: alfa y beta. De hecho, permitió el desarrollo de medicamentos como los beta-bloqueantes, que actuaban de forma efectiva en las afecciones cardiacas. No obstante, el mecanismo seguía siendo desconocido.

Los intentos por caracterizarlos siguieron adelante pero en los siguientes años tampoco se consiguió aislar ninguno de estos receptores, tanto que incluso el propio Ahlquist dudó de que fueran más que una abstracción.

Entra en juego ya Lefkowitz, que tras graduarse, comienza a trabajar en una institución de investigación dependiente de los National Institutes of Health (NIH). Su supervisor le encarga analizar la acción de las hormonas en las células mediante un mecanismo que permita "seguirlas": empleando una "etiqueta" radioactiva (iodina). Esto podía ayudar no sólo a localizar los receptores si los había, sino también controlar si dicha unión activaba procesos celulares. Tras una primera etapa no muy prometedora, consiguió con éxito aislar los efectos que buscaba, y publicó su trabajo en las revistas PNAS[3] y Science[4], lo que le valió cierto reconocimiento.

Tras esta etapa pudo organizar su propio grupo de investigación en la Universidad de Duke, en Carolina del Norte. Gracias a su trabajo allí, se consiguió aislar más receptores. Además, en paralelo, otros investigadores habían incrementado el conocimiento sobre lo que se conocía como proteínas G, un grupo de moléculas que reaccionaban tras la unión a un receptor, y que activaban una cascada de señales que alteraban el metabolismo de la célula.

2.2. La genética entra en juego

Ya en los años 80, y acorde con el creciente desarrollo de las técnicas genéticas, Lefkowitz decide trabajar sobre el aislamiento del gen que codifica para el receptor beta. En esta misma época entra a trabajar en su grupo Brian Kobilka, y se centra en el trabajo sobre el aislamiento del gen. Cuando obtuvo su secuencia, encontró que el receptor, con gran probabilidad, estaba formado de 7 alfa hélices. Las alfa hélices son un tipo de estructura secundaria presente en las proteínas, y si su composición contiene aminoácidos hidrofóbicos, como ocurre en las hélices transmembrana, interaccionan bien con las bicapas lipídicas que forman la cubierta celular. Esto era una gran noticia para el proyecto concreto, pero fue además la clave para comprender más tarde lo que era un mecanismo general. Al descubrir la secuencia de este receptor, se dieron cuenta de que una estructura muy similar se daba en el caso de la rodopsina, un receptor de luz presente en

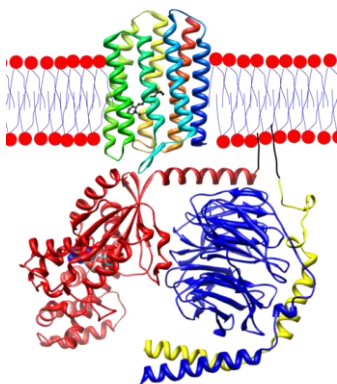


Fig. 2. Complejo de la rodopsina (encapsulada en la bicapa lipídica) con la proteína G transducina

la retina.

El mecanismo de acción de la rodopsina era conocido, e implicaba la interacción con proteínas G a través del receptor. Y más aún, conocía otros receptores que también actuaban de dicha forma. Esto indicaba que una gran familia de receptores proteicos en las membranas celulares podría presentar un mismo mecanismo. Desde ese punto, el trabajo pasó a intentar comprender como interaccionaban cada uno de los elementos implicados en los mecanismos, así como las particularidades de las rutas que activaban cada uno de los receptores. Pero aún faltaba algo que podía ayudar a terminar de esclarecer los mecanismos a nivel molecular y que pondría cara al actor principal: la estructura tridimensional de los receptores.

2.3. Sonríe para nosotros

Tras aislar el gen del receptor, Kobilka también forma su propio grupo, en la Universidad de Stanford, California. Su siguiente reto es tratar de obtener la estructura 3D del receptor. Para ello, y con el objetivo de usar la cristalografía de rayos X posteriormente, el primer paso al que se enfrentaba era la producción de un cristal de la proteína en cuestión. Y esto no era tarea fácil. Para empezar, porque hay pocos receptores en términos absolutos en una membrana, y además están muy encapsulados en ella. Pero es que incluso los métodos tradicionales para obtener altas concentraciones de proteína aislada no son eficaces con las proteínas de membrana. Su hidrofobicidad (para anclarse en la membrana) e inestabilidad (para transmitir señales) intrínsecas dificultaban poder obtener cristales, y de hecho muy pocas estructuras de proteínas de membrana se conocen y sigue siendo un reto que poco a poco se va superando [5]. Por todo ello, Kobilka necesitó de muchos años para obtener lo que finalmente consiguió en 2011: la estructura del receptor en el mismo momento en el que transfiere la señal de la hormona desde fuera de la célula a la proteína G acoplada en su interior. La estructura, publicada en Nature [6], reveló aspectos clave sobre el mecanismo, y puede verse en la siguiente figura:

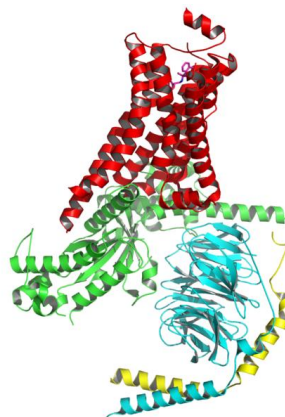


Fig. 3. Estructura del receptor adrenérgico activado beta 2, en complejo con proteínas G

3. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El conocimiento derivado de todo el trabajo realizado sobre los receptores a proteínas G tiene una serie de aspectos que creo es importante destacar:

- La aplicabilidad del trabajo a aspectos terapéuticos y clínicos, ya que este tipo de receptores están implicados en muchísimos procesos afectados a su vez por enfermedades comunes.
- La interdisciplinariedad del trabajo que ha culminado en el premio: medicina, biología y química se dieron la mano a lo largo del proceso.
- El gran avance de la cristalografía en los últimos 50 años, que ha permitido que hoy en día estudiemos problemas que antes ni nos hubiéramos planteado. Especialmente, el desarrollo de técnicas de cristalización que nos permiten abordar

problemas como el de éste receptor, flexible e inestable por naturaleza. Pero también el desarrollo de la microcristalografía, que permitió, reduciendo el tamaño de los haces de rayos X empleados, obtener buenos patrones de difracción de cristales pequeños, encajando el tamaño del haz con el del cristal. Esto reducía el ruido de fondo de la técnica y mejoraba la adquisición de datos, y hoy en día es la tecnología más usada para macromoléculas. Y por último, las mejoras en los sincrotrones (los aceleradores de partículas donde se generan los rayos X), que se han ido desarrollando en paralelo con las necesidades de las comunidades que las demandaban y que están altamente especializados en técnicas que optimizan nuestros experimentos.

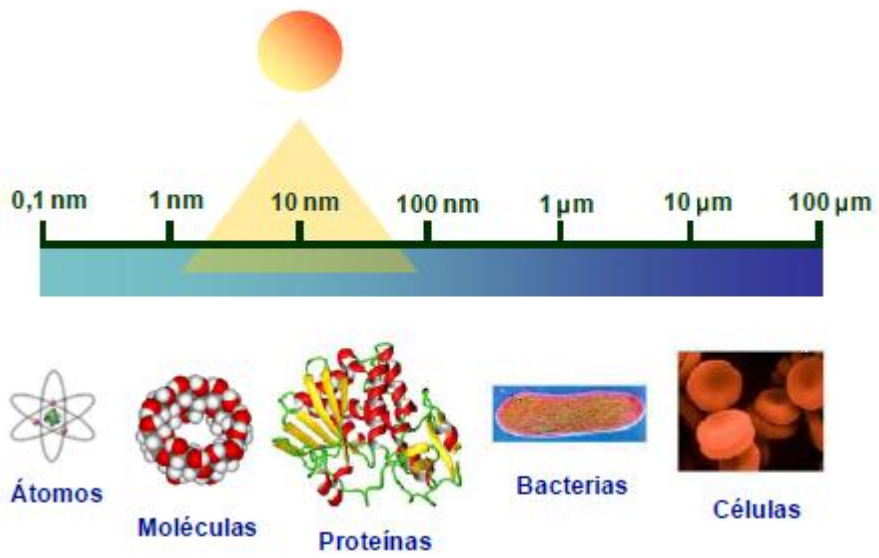
REFERENCIAS

- [1] M. Bennett, "One hundred years of adrenaline: the discovery of autoreceptors", *Clin Auton Res*, vol. 9, no. 3, pp. 145-159, doi:10.1007/BF02281628
- [2] Artículo en Wikipedia sobre la historia en la investigación de las catecolaminas. Wikipedia.
http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_catecholamine_research
- [3] R. J. Lefkowitz, E. Haber and D. O'Hara, "Identification of the cardiac beta-adrenergic receptor protein: solubilization and purification by affinity chromatography " *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 69, no. 10, pp. 2828-2832
- [4] R.J. Lefkowitz, J. Roth and I. Pastan, "Radioreceptor assay of adrenocorticotrophic hormone: new approach to assay of polypeptide hormones in plasma ", *Science*, vol. 170, no. 3958, pp. 633-635.
- [5] E. P. Carpenter, K. Beis, A. D. Cameron and S. Iwata, "Overcoming the challenges of membrane protein crystallography ", *Curr Opin Struct Biol*, vol. 18, no. 5, pp. 581-586, doi: 10.1016/j.sbi.2008.07.001
- [6] S. G. F. Rasmussen, B. T. DeVree, Y. Zou, A. C. Kruse, K. Young Chung, T. S. Kobilka, F. S. Thian, P. S. Chae, E. Pardon, D. Calinski, J. M. Mathiesen, S. T. A. Shah, J. A. Lyons, M. Caffrey, S. H. Gellman, J. Steyaert, G. Skiniotis, W. I. Weis, R. K. Sunahara and B. K. Kobilka, "Crystal structure of the beta(2) adrenergic receptor-Gs protein complex". *Nature*, vol. 477, no. 477, pp. 549-555, doi:10.1038/nature10361.
- [7] Information for the public: The Nobel Prize in Chemistry 2012. Web del premio Nobel.
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2012/popular-chemistryprize2012.pdf



Claudia Lucía Millán Nebot recibió el título de Licenciada en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide en 2011, y de Máster en Cristalografía y Cristalización en 2012 por la Universidad Internacional Menéndez Pelayo. Desde entonces trabaja como investigadora en el grupo de la Doctora Isabel Usón, en el Instituto de Biología Molecular de Barcelona, perteneciente al CSIC. Su interés investigador principal es el desarrollo de métodos para la resolución de estructuras difíciles de proteínas en un entorno de supercomputación. La divulgación científica es otro de sus intereses, y por ello es a su vez editora de la sección MoleQLa Cristalina.

MOLEQLA NANOTECNOLÓGICA



COPA DE LICURGO: CUANDO CIENCIA Y ARTE SE DAN LA MANO PARA HACER HISTORIA

José María Oliva Montero

Resumen—La copa de licurgo, expuesta en el Museo Británico, data del siglo IV después de Cristo. Su talla en relieve representa la mitológica leyenda del rey Licurgo y el triunfo de Dionisio sobre este. Pero en su interior esconde algo más que leyendas, los secretos de lo que se considera el cristal técnicamente más sofisticado antes de la Era Moderna.

Palabras Claves— Nanotecnología, dicroísmo, SPR, biosensor.

1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es probablemente uno de los mayores hitos de las últimas décadas. La explosión tecnológica ha permitido al hombre moderno trabajar con sistemas entre cien y mil millones de veces más pequeños que un metro; donde los materiales cobran propiedades particulares. Pero el comienzo de la nanotecnología data, al menos, desde hace 1700 años y la copa de Licurgo es la prueba de ello

2. LA COPA Y LA LUZ

El cristal de la copa tiene propiedades dicroicas; refleja la luz verde y transmite la luz roja (Fig.1). ¿Pero a qué se debe esto?

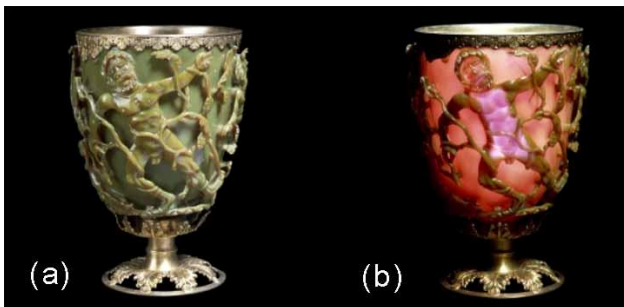


Figura 1. Copa de licurgo bajo luz reflejada (a) y luz transmitida (b)¹

El análisis químico de la copa ofrece la siguiente composición: sosa-cal-sílica (al igual que la mayoría de los cristales desde la época romana a nuestros días), 0.5% manganeso, trazas de otros elementos como antimonio, aproximadamente 40 ppm de oro y 300 ppm de plata.

La microscopía electrónica de transmisión reveló la presencia de nanopartículas de entre 50 y 100 nm. El análisis de rayos X determinó la composición de las mismas; oro y plata en proporción 7:3.

Estas minúsculas partículas son las responsables de las propiedades ópticas del cristal. Cuando la luz incide en

pequeñas nanopartículas metálicas es capaz de excitar a la nube de electrones de manera colectiva, originando oscilaciones dipolares que decaen en escalas de tiempo entre 10-100 femto-segundos (Fig.2). Este movimiento recibe el nombre de resonancia de plasmón de superficie localizado (LSPR por sus siglas en inglés).

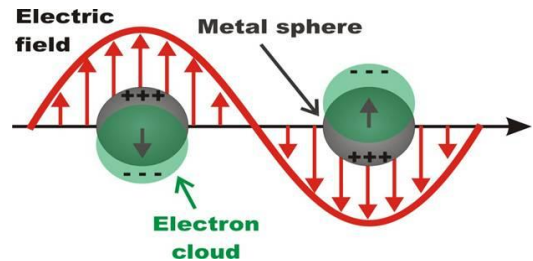


Figura 2. Oscilaciones del campo eléctrico sobre la superficie de nanopartículas metálicas; conocido como resonancia plasmónica²

Esta interacción con la luz produce diferentes colores dependiendo de la composición, forma y tamaño de las nanopartículas. Esto explica el verde de la copa, debido a las nanopartículas de plata y el rojo a las de oro.

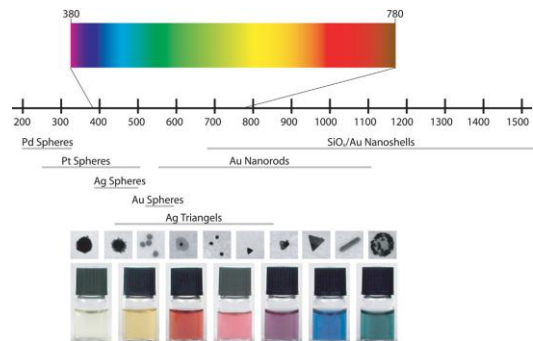


Figura 3. Longitud de onda (color) que emiten las nanopartículas según el material, tamaño y forma de las mismas³

Pero lo más asombroso de esta copa es observar las condiciones necesarias para su fabricación: El color depende de la concentración precisa de nanopartículas, y a su vez estas de la proporción de plata y oro (7:3). Se piensa que es el antimonio (usando en la época como decolorante y opacificante del vidrio), presente en una proporción del 0.3%, el agente reductor necesario para la formación de las nanopartículas. El potencial de oxidación reducción de las diferentes especies que componen la muestra son clave para la reducción del oro y la plata y, consecuentemente, la formación, morfología y tamaño de las nanopartículas resultantes. La temperatura para moldear el vidrio y reducir los metales así como la atmosfera del proceso también se presumen claves.

3. DE LA PROPIEDAD A LA APLICACIÓN

El plasmón confiere a las nanopartículas metálicas una extremada sensibilidad al ambiente local, provocando cambios en su índice de refracción (RI). La aplicación de dicha propiedad, que no es más que una sofisticada evolución de la copa de licurgo, permite usarlas como excelentes biosensores. Esta propiedad brinda la posibilidad de, por ejemplo, cuantificar la unión y cinética antígeno-anticuerpo, medir la concentración de ligandos o incluso determinar el peso molecular del metabolito unido.

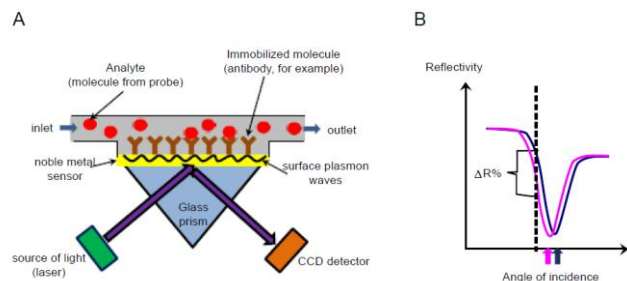


Figura 4. Esquema del experimento de (SPR). Prisma de vidrio recubierto con una capa de metal noble (generalmente oro) sobre el que se inmovilizan moléculas de reconocimiento (A). El ángulo de incidencia del haz láser es recogido por el detector (B)⁴.

La figura 4 muestra una de las posibles configuraciones de los sensores basados en las propiedades ópticas de las nanopartículas de oro y plata. El proceso se lleva a cabo haciendo pasar un haz de luz láser sobre un prisma en el que está depositada una nanosuperficie de oro en la que se encuentran ancladas moléculas de reconocimiento altamente específicas (generalmente anticuerpos). La unión a un ligando específico modifica el ángulo de incidencia del haz luz refractado sobre el detector.

4. CONCLUSIONES

Dicho esto solo queda añadir un pensamiento. "Quizás la ciencia no sea más que el arte al servicio del conocimiento, en pos de la evolución humana".

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer al Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía (FQM-6615) su beca predoctoral.

REFERENCIAS

- [1] Ian Freestone et al. The Lycurgus Cup- A Roman Nanotechnology. Gold Bulletin. 2007, 40/4.
- [2] A. Fernández, M.A. Muñoz-Márquez. El color en los nanomateriales: Metales. ICMS-CSIC.
- [3] Kerstin Schröder and Andrea Csáki. Plasmonic tuning of optical fibers for biosensing. SPIE. (2011).
- [4] Shpacovich Victoria. Application of Surface Plasmon Resonance (SPR) for the Detection of Single Viruses and Single Biological Nano-objects. J Bacteriol Parasitol. 2012, 3:7.



José María Oliva Montero es licenciado en Farmacia por la Universidad de Sevilla, en la que está finalizando también su licenciatura en Bioquímica. Actualmente realiza su doctorado en el laboratorio de Nanotecnología de la Universidad Pablo de Olavide, bajo la dirección de la Dra. Zaderenko. En su proyecto de Tesis aborda el diseño y optimización de nanofármacos destinados a la terapia antitumoral selectiva.

Papiroflexia molecular

Javier Vázquez Marín

Resumen—El DNA origami es una técnica molecular reciente que permite la síntesis de nanopartículas y nanocapas resistentes, elaboradas íntegramente a partir de DNA. Descubra cómo se producen unas estructuras que podrían revolucionar el mundo de la Nanotecnología en los próximos años.

Palabras Claves— Crossovers, DNA, Innovación, Nanocapas, Origami.

1. EL ARTE AL SERVICIO DE LA CIENCIA

Siempre he sido de la opinión de que el trabajo de laboratorio constituye todo un arte, pero en los últimos años, este concepto se ha llevado a otro nivel, donde la creatividad se alía con la funcionalidad.

En el año 2006, el investigador estadounidense Paul Rothemund desarrolló una técnica innovadora, conocida como DNA origami, que permitía la obtención de partículas y capas a escala nanométrica, elaboradas íntegramente de DNA. Al igual que el milenar arte de la papiroflexia japonesa, el propósito de esta técnica consiste en fabricar estructuras bidimensionales y tridimensionales a partir de un único material de partida, al que se le da forma mediante una serie de “plegamientos”. Estas nanoestructuras pueden emplearse para una gran variedad de aplicaciones, enfocadas fundamentalmente a su uso como herramienta de diagnóstico y como vectores de liberación de fármacos en poblaciones celulares específicas. [1]

El propósito de este artículo consiste en examinar cómo se sintetizan estas construcciones de DNA, tratando de ahondar en los avances más recientes de la técnica.

2. SINTETICE SU PROPIA NANOESTRUCTURA

2.1. Fundamentos técnicos

El procedimiento de síntesis de nanoestructuras de DNA mediante la técnica de DNA origami constituye lo que en Nanotecnología se conoce como una técnica *bottom-up*, es decir, una técnica en la cual se parte de una serie de compuestos o reactivos que se asocian para dar lugar al producto final.

El fundamento de esta técnica es partir de una hebra de DNA monocatenario, a la cual se le incorporan oligonucleótidos específicos que modifican su estructura tridimensional, hasta generar una nanocapa o una nanopartícula con la morfología deseada (Figura 1A). La cadena base de DNA de la que se parte siempre es el material genético del bacteriófago M13mp18, una molécula de DNA circular y monocatenario compuesta por 7.249 nucleótidos. Precisamente, son estas características estructurales las que hacen de ella el material perfecto del que partir para la obtención de nanoestructuras de DNA. La estructura de esta cadena de DNA se puede alterar me-

dante un juego de entre 200 y 250 oligonucleótidos, denominados *staple strands*, que se diseñan para que se acoplen de forma específica en ciertas regiones de la cadena molde del fago M13. La disposición de estos oligos induce el establecimiento de una serie de *puntos de anclaje* o *crossovers*, que actúan a modo de vigas para dar la forma final a la estructura (Figuras 1B y 1C).

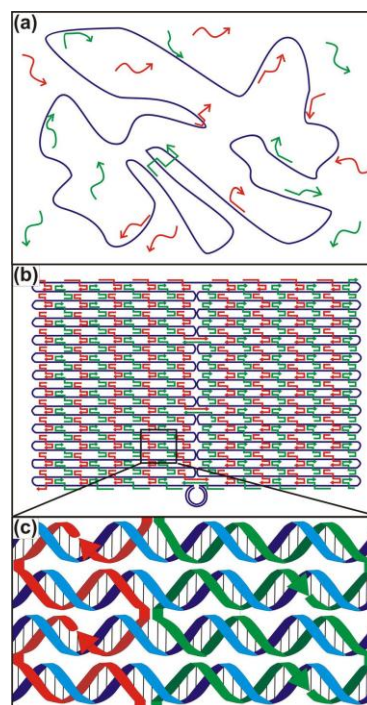


Fig. 1. Esquema representativo del proceso de síntesis de una nanocapa de DNA mediante la técnica de DNA origami. La cadena base está representada de color azul, y las *staple strands*, en rojo y verde.

Este proceso de síntesis requiere un paso previo exhaustivo de diseño, en el que se ha de determinar en qué puntos de la estructura deben establecerse los *crossovers* responsables de la estructura final del producto, y, en consecuencia, la secuencia de cada uno de los oligos que se unirán físicamente a la cadena base. Este proceso de diseño intercala etapas realizadas a mano (para establecer el boceto principal de la estructura) y por ordenador me-

diente programas informáticos (por si les interesa saberlo, el software *caDNA* es el más utilizado). [1]

2.2. Estructuras monocapa

La técnica de DNA origami se concibió en un principio como un método para formar nanocapas bidimensionales. Para ello, basta con seguir el procedimiento descrito en el apartado anterior, teniendo en cuenta que los puntos de anclaje deben encontrarse en una disposición concreta. Así, las *staples strands* se diseñan normalmente para que se establezcan *crossovers* cada 16 pares de bases de la cadena base de DNA. Esta disposición permite obtener nanocapas compuestas por hélices rectas, que a menudo dan lugar a estructuras en forma de cuadrilátero, aunque también es posible obtener estructuras tan variopintas como estrellas o caras sonrientes (Figura 2). [1], [2], [3]

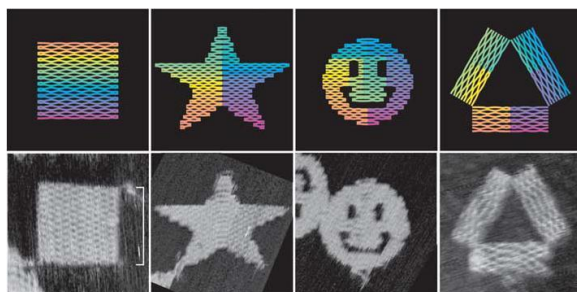


Fig. 2. Ejemplos de nanocapas bidimensionales de DNA. Las figuras superiores son modelos de estas figuras diseñados por ordenador, y las inferiores, imágenes de nanocapas de DNA reales observadas al microscopio electrónico de transmisión. La variedad de estructuras que se puede formar es enorme y depende de la disposición de las *staple strands*.

Si cambiamos la longitud que separa cada *crossover* y el ángulo en que éstos se disponen con respecto a la cadena base (Figura 3), es posible sintetizar un entramado que dé lugar posteriormente a una estructura curva, ya sea un círculo o incluso una nanopartícula semiesférica tridimensional.

2.3. Estructuras multicapa



Fig. 3. La figura izquierda representa un entramado recto de DNA, que da lugar a figuras planas. Si se cambia la disposición y el ángulo de interacción de las *staple strands* con la cadena base, como se observa en la figura de la derecha, es posible obtener nanocapas de estructura curva. La cadena base está representada en azul y las *staple strands*, en rojo y verde.

Una de las mayores limitaciones que implica la síntesis de nanopartículas bidimensionales de DNA es que presentan una pobre resistencia frente al estrés mecánico. Con el objetivo de solventar este inconveniente, se ha comenzado a desarrollar estructuras tridimensionales, elaboradas a partir de varias nanocapas apiladas e interconectadas entre sí mediante una red adicional de *staple strands*.

De igual manera que en el caso de las nanopartículas curvas mencionadas líneas atrás, si se cambia el patrón de *crossovers*, será posible obtener estructuras más complejas (Figura 4). Por ejemplo, si diseñamos las *staple strands* de modo que cada sección de la cadena base contacte con otras tres adyacentes, como se ilustra en las figura 4E, es posible obtener nanotubos hexagonales en forma de hélice. [2], [3]

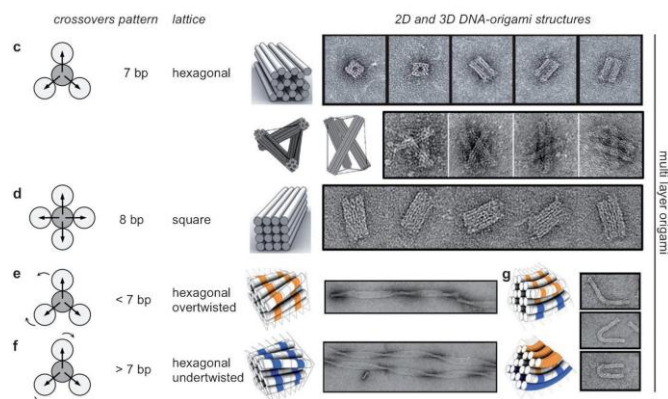


Fig. 4. Las figuras de la parte izquierda representan esquemas en los que se muestra en qué ángulos interaccionan cada una de las secciones de la cadena base entre sí (algo que depende de la disposición de las *staple strands*, como ya hemos mencionado) para dar lugar a las respectivas estructuras tridimensionales de la derecha.

2.4. Estructuras tridimensionales complejas

Si lo que han visto en los apartados anteriores les ha parecido asombroso, lo que viene a continuación es rizar el rizo, directamente.

Se ha conseguido fabricar nanopartículas cúbicas huecas de dimensiones $42 \times 36 \times 36 \text{ nm}^3$ a partir de nanocapas ensambladas entre sí. Para diseñar estas estructuras, lo que se ha hecho ha sido partir de 6 nanocapas bidimensionales de medidas similares, que luego se ensamblan en ángulos de 90° empleando las *staple strands* adecuadas para ello (Figura 5). [3], [4]

Sin embargo, lo más interesante de estas partículas no es cómo se sintetizan, sino su función. Estas estructuras se han diseñado con el objeto de que transporten en su interior medicamentos que se liberen en una clase específicas de células ¿Cómo se podría hacer tal cosa? Aquí viene lo más asombroso. Estas "cajas de DNA", como así se les ha llamado, se pueden diseñar de tal forma que tengan una especie de "doble cerradura". Esta cerradura está compuesta por dos cadenas complementarias de DNA, una ubicada en la cara superficial (que haría las veces de ta-

padera) y otra en la cara frontal adyacente. Cuando ambas cadenas se mantienen hibridadas, la nanopartícula permanece cerrada. Sin embargo, si se consigue que la célula a la que van dirigidas exprese el oligo complementario al de la cara frontal adyacente, ocupará el lugar del oligo de la tapadera y la caja se abrirá, liberando su contenido. Este proceso ya se ha estudiado mediante FRET, obteniéndose los resultados esperados (Figura 6). [4]

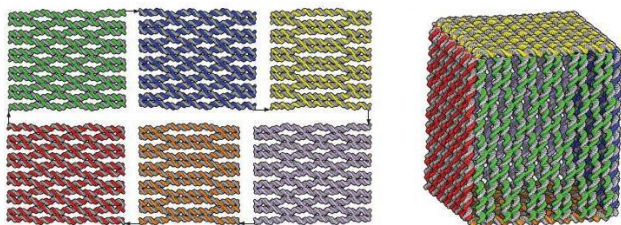


Fig. 5. El ensamblaje de 6 nanocapas bidimensionales de DNA permite crear nanopartículas huecas, que pueden almacenar medicamentos en su interior. La nanocapa amarilla es la tapadera, y la verde, la cara frontal adyacente.

Además de estructuras cúbicas huecas, por el momento también se ha logrado sintetizar estructuras tridimensionales huecas asimétricas, con forma de botella para ser exactos, a las que sus creadores han bautizado como “nanofrascos”, los cuales se utilizarían para el mismo menester que las cajas de DNA. [3]

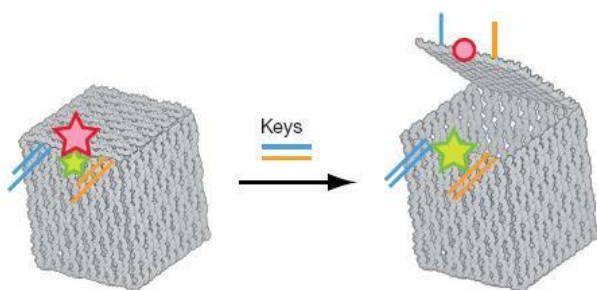


Fig. 6. Esquema del sistema de llave y cerradura implementado en las cajas de DNA.

3. Y PARA EL FUTURO...

Las novedades no terminan aquí. Otros grupos de investigación ya se han puesto manos a la obra y están planteando innovaciones que permitirían mejorar la técnica, como el uso de material genético con bases modificadas o con citosinas metiladas para aumentar su resistencia a la acción de las nucleasas celulares. Por otra parte, emplear nucleótidos sintéticos modificados (llamados “LNA”), incrementaría la estabilidad química y térmica de las construcciones, así como su especificidad de interacción. [5]

Por otra parte, es posible que se lo hayan preguntado a

lo largo del artículo, pero ¿es necesario que el material genético de partida sea del fago M13? De momento sí, pero ya se está madurando la idea de emplear moléculas de DNA bicatenario, más largas, que permitirían ampliar el rango de nanopartículas que se podrían sintetizar. Incluso se ha logrado producir *staple strands* más complejas, capaces de mantener estructuras elaboradas con cadenas de DNA de 30 kb de longitud. [3]

4. CONCLUSIONES

En resumen, las posibilidades que otorga la técnica del DNA origami están llamadas a revolucionar el mundo de la Nanotecnología. La elaboración de una nueva generación de nanocapas y nanopartículas resistentes, junto con las mejoras que ya se están desarrollando, permitirá dar un paso más allá en el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades; pero la descripción de cada una de estas aplicaciones será algo que se comentará en posteriores artículos...

REFERENCIAS

- [1] P.W.K. Rothmund, “Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns” *Nature*, vol. 440, pp. 297-302, Mar 2006, doi: 10.1038/nature04586.
- [2] B. Saccà and C.M. Niemeyer, “DNA Origami: the art of folding DNA” *Angewandte Chemie (International ed. In English)*, vol. 51, pp. 58-66, Jan 2012, doi: 10.1002/anie.201105846.
- [3] T. Tørring, N.V. Voigt, J. Nangreave, H. Yan and K.V. Gothelf, “DNA Origami: a quantum leap for self-assembly of complex structures” *Chemical Society reviews*, vol. 40, no. 12, pp. 5636-5646, Dec 2011, doi: 10.1039/c1cs15057j.
- [4] E.S. Andersen, M. Dong, M.M. Nielsen, K. Janh, R. Subramani, W. Mamdouh, M.M. Golas, B. Sander, H. Stark, C.L.P. Oliveira, J.S. Pedersen, J. Birkedal, F. Besenbacher, K.V. Gothelf and J. Kjems, “Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid” *Nature*, vol. 459, pp. 73-77, May 2009, doi: 10.1038/nature07971.
- [5] N. Michelotti, A. Johnson-Buck, A.J. Manzo and N.G. Walter, “Beyond DNA origami: A look on the bright future of nucleic acid nanotechnology” *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology*, vol. 4, no. 2, pp. 139-152, Mar-Apr 2012, doi: 10.1002/wnan.170.



Fotografía de Javier Vázquez Marín.

Javier Vázquez Marín recibió el título de Licenciado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla en julio de 2012. Lleva trabajando periódicamente desde 2010 como alumno interno en el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD) en el grupo de investigación del Dr. Martínez Morales. Actualmente se encuentra cursando un Máster en Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide.

ADN origami: funcionalización y aplicaciones. De la cara sonriente a los nanochips.

Andrea Valencia Expósito

Resumen— Desde el descubrimiento del sistema ADN origami, por el cual es posible el plegamiento controlado de secuencias de ADN mediante el uso de pequeñas secuencias “grapa” complementarias, muchos han sido los avances realizados en este campo, obteniéndose estructuras 2D y 3D de mayor complejidad. Sin embargo, a pesar de los progresos experimentados en cuanto a la obtención de estructuras, su aplicación práctica aún es una materia bajo debate. El ADN origami proporciona una herramienta muy poderosa para organizar y manipular moléculas en la escala nanométrica, sin embargo, debido a la baja funcionalidad química, óptica y electrónica del ADN se hace fundamental la funcionalización de estas estructuras para su explotación completa. Por este motivo, se han desarrollado diversas estrategias para la modificación química y funcionalización de las nanoestructuras de ADN para permitir su aplicación en diversos campos de la ciencia, en los cuales pueden tener usos tan diversos como la liberación controlada de drogas, la construcción de nanochips de ADN o la obtención de materiales híbridos de uso en robótica y electrónica.

Palabras Claves— origami, grapas, M13, hibridación, funcionalización

1. INTRODUCCIÓN

En 2005 Paul Rothemund sorprendió a la comunidad científica con un método capaz de plegar una secuencia de ADN viral a su antojo. Conociendo la secuencia del virus a cada vuelta y giro, pudo diseñar secuencias de ADN complementarias, de unos 16 pares de bases que podrían “grapar” los pliegues en el lugar deseado. Así, encargó las grapas a una compañía de síntesis de ADN, las mezcló con su virus en un buffer que estabilizaba el ADN, y luego calentó y enfrió la mezcla permitiendo así a la cadena simple de ADN del virus unirse a las grapas. El resultado, observado mediante el uso de un microscopio de fuerza atómica (AFM) fue la llamada “cara sonriente” y otras formas creadas por lo que él llamó ADN origami (Fig.1).¹

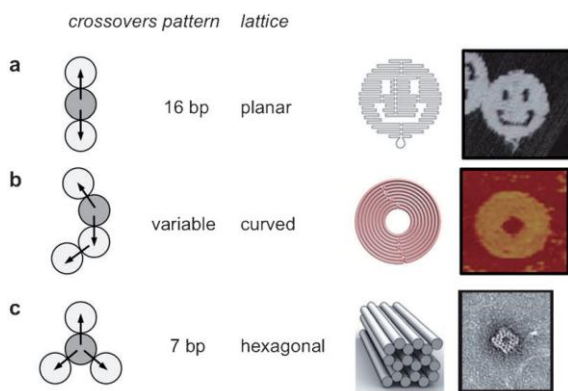


Fig. 1. Representación esquemática de los patrones y las estructuras origami a las que dan lugar. Las hélices de ADN se indican con círculos. Las flechas negras indican las conexiones interhélice entre un eje de referencia (círculo gris oscuro) y sus hélices vecinas (círculos en gris claro). Se indica también el número de pares de bases entre conexiones consecutivas a lo largo del mismo eje helicoidal.¹

El ADN origami proporciona una herramienta muy poderosa para organizar y manipular moléculas en la escala nanométrica, sin embargo, debido a la baja actividad química, óptica y electrónica del ADN, se hace fundamental la funcionalización de estas estructuras de ADN para su explotación.²

2. FUNCIONALIZAR EL ADN ORIGAMI

2.1. Inserción de horquillas en mancuerna

Una de las principales modificaciones de las estructuras origami para su funcionalización consiste en la inserción de motivos voluminosos, denominados horquillas en mancuerna, en posiciones específicas en cadenas grapa determinadas. Ya que las posiciones de estos motivos en la superficie del plano origami pueden ser detectados fácilmente como puntos brillantes en un microscopio de fuerza atómica, éstos pueden ser utilizados como marcadores topográficos para romper la simetría y permitir la identificación de regiones distintivas de objetos geométricos.³

2.2. Modificación química de las cadenas grapa

Otra forma de funcionalizar las estructuras de ADN origami es la modificación química de las cadenas grapa con una molécula de biotina, lo cual permite la unión de estreptavidina en las posiciones seleccionadas en la estructura origami. Las posiciones marcadas pueden ser detectadas posteriormente mediante AFM. Este método ha sido utilizado para estudiar patrones proteicos en moldes de ADN origami, o para visualizar eventos de moléculas individuales en las posiciones seleccionadas biotiniladas en la estructura origami. Recientemente se ha empezado a aprovechar la multivalencia de la estreptavidina (STV)

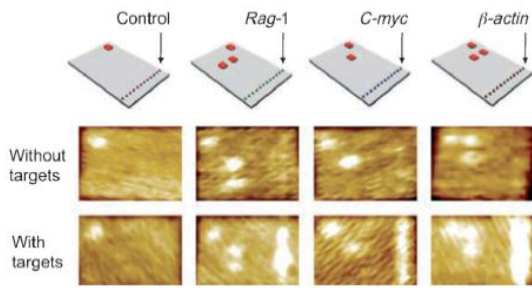


Fig. 2. Chip de ADN origami para la detección de ARNs diana sin necesidad de utilizar marcadores fluorescentes. Este chip se basa en la hibridación de las dianas a extensiones de ADN de cadena simple en las cadenas grapa.⁵

para conjugar una estructura origami biotinilada con nanotubos de carbono biotinilados.^{1,3}

2.3. Hibridación de componentes a las cadenas grapa.

El método más utilizado para la modificación de estructuras origami consiste en la hibridación de componentes unidos a ADN a prolongaciones terminales de las cadenas grapa seleccionadas en el plano origami. Este método ha sido utilizado para la decoración de origami con nanopartículas de diferente tamaño. Por ejemplo, se ha utilizado un origami plegado de forma triangular para organizar una cadena de nanopartículas de oro o plata en uno de sus bordes. También se ha utilizado este método para el encapsulamiento de nanopartículas de oro de diferentes tamaños en una caja origami con una cavidad interna. Sin embargo, a pesar de su aplicabilidad general, la decoración basada en el método de hibridación normalmente requiere un ciclo adicional de anillamiento a una temperatura elevada para asegurar la hibridación completa y la unión de los componentes con las cadenas origami complementarias. Por esta razón, este protocolo presenta un uso limitado por la elevada temperatura de anillamiento requerida cuando se está trabajando con moléculas termolábiles, como proteínas, que son inmovilizadas en andamios origami.¹

3. APLICACIONES DEL ADN ORIGAMI

Debido a la simplicidad experimental y a la fidelidad del proceso de plegamiento, la variedad de estructuras complejas que se pueden obtener mediante esta técnica, y la capacidad de llevar a cabo modificaciones químicas sobre dichas estructuras para proporcionarles una función, el ADN origami presenta multitud de aplicaciones en distintos campos de la ciencia, y en la actualidad ya se ha empezado a experimentar sobre alguna de estas aplicaciones.

3.1. Liberación controlada de drogas.

Una de las aplicaciones más esperanzadoras del ADN origami es la contención y liberación selectiva de drogas para tratar enfermedades como el cáncer.² Uno de los principales inconvenientes de la quimioterapia, el tra-

tamiento más utilizado en cáncer, es su agresividad y baja especificidad, afectando no sólo a las células cancerosas sino a todo el sistema. Por esta razón, las investigaciones en las terapias anticancerígenas se centran en obtener un tratamiento selectivo, que afecte sólo a las células malignas donde adquieren una importancia vital los sistemas de liberación de drogas. En este contexto, el ADN origami podría responder a esta necesidad selectiva. En la actualidad se está investigando en la generación de estructuras huecas de ADN origami como cajas, que puedan contener un compuesto en su interior y así liberarlo de forma controlada. Comparado con otros sistemas de la nanoescala diseñados para la liberación de drogas como micelas poliméricas y partículas inorgánicas, las construcciones basadas en ADN origami presentan algunas ventajas: (I) mismo tamaño, forma y carga para cada partícula en lugar de la distribución de tamaños obtenida para otras nanoestructuras autoensambladas; (II) perfecto control en la colocación o situación de características funcionales en la estructura utilizando oligos específicos. Dadas estas ventajas, se sugiere que las nanoestructuras de ADN origami deberían ser consideradas una herramienta prometedora en la nanotecnología contra el cáncer. De hecho, ya se han realizado ensayos en los que se han utilizado nanoestructuras de ADN origami para la liberación de diferentes cargos en las células como oligonucleótidos inmunoestimuladores o anticuerpos inductores de la apoptosis. Una de las últimas investigaciones llevadas a cabo en este campo se ha basado en el diseño de estructuras origami para la liberación en células de cáncer de mama de doxorubicina, una antraciclina que actúa como agente intercalante de ADN bloqueando su síntesis y transcripción además de provocar roturas en el mismo. La favorable cinética de liberación y la baja toxicidad de este sistema de carga de la ruboxomicina junto a la conocida flexibilidad del método de ADN origami para decorar las estructuras con diferentes ligandos específicos de diana, convierten este sistema en una prometedora herramienta para el direccionamiento activo de nanoestructuras en las terapias anticáncer.⁴

3.2. Estudios sobre moléculas individuales.

Uno de los principales experimentos que se llevaron a cabo en este tipo de estudios tenía como objetivo la detección de eventos de hibridación, para lo que se utilizó una estructura rectangular obtenida por plegamiento de ADN origami. Se elongaron cadenas grapa en posiciones definidas en el rectángulo origami usando cadenas sencillas complementarias a ARNs diana específicos. Estos chips de ADN se exponían a una solución homogénea de ARN y tras la unión del ARN se analizaban los chips por AFM. De esta manera, se podían detectar los lugares exactos de hibridación del ARN diana sin necesidad de marcar con fluorescencia.⁵

Siguiendo en esta línea, unos años después, un grupo de investigación utilizó la técnica del ADN origami

para la detección de polimorfismos de un solo nucleótido. Lo que hicieron en este caso consistió en obtener una estructura rectangular de ADN origami sobre cuya superficie y sobresaliendo de la misma se añadieron cadenas grapa diseñadas para dibujar los símbolos de cada una de las cuatro bases nitrogenadas del ADN, adenina (A), timina (T), guanina (G) y citosina (C) y el símbolo que contiene. Estas cadenas que configuraban las diferentes letras estaban marcadas con un fluorocromo y un quencher en sus extremos de manera que al añadir la muestra, si se daba un total apareamiento de las bases se daba fluorescencia mientras que un desapareamiento en una sola base interrumpía la fluorescencia.⁶

Se han realizado diversos experimentos para probar las estabilidad de estructuras origami en ambientes celulares. Se analizó así el comportamiento de estas estructuras tanto en células normales como cancerosas y la capacidad de separar posteriormente estas estructuras de los componentes de un lisado celular. Tras aislar y analizar las estructuras origami se demostró que estas nanoestructuras son estables en un lisado celular y que pueden ser extraídas fácilmente de las mezclas de lisado, al contrario de lo que ocurre con las hebras sencillas y dobles de ADN natural. Las imágenes de fuerza atómica (AFM) y de microscopio electrónico de transmisión (TEM) mostraron que las estructuras origami se encontraban totalmente intactas tras separarlas del medio celular y eran capaces



Fig. 3. Plantilla de ADN origami utilizada para la detección de polimorfismos de un solo nucleótido. Las líneas negras representan el andamio de ADN de M13, las delgadas líneas azules corresponden a las cadenas grapa y las líneas de distintos colores corresponden a las cadenas utilizadas para la formación de las letras.⁶

de hibridar con sus dianas demostrando así la integridad estructural superior del ADN origami autoensamblado con respecto a los oligonucleótidos convencionales. Esta demostración de estabilidad y funcionalidad de las estructuras origami constituye un paso importante hacia la validación de su uso en aplicaciones biológicas como nanoarrays solubles o plataformas de detección de enfermedades.⁷

3.3. Materiales híbridos.

El ADN origami no solo se ha utilizado como molde para el diseño de proteínas y otras moléculas orgánicas,

sino que también es útil para la síntesis así como la disposición de partículas metálicas y otros materiales inorgánicos. La generación de estos materiales híbridos podría ser de utilidad en el estudio del efecto dependiente de distancia del acoplamiento plasmónico de partículas metálicas, lo cual presenta un interés potencial en los aparatos ópticos. Recientemente, se ha estado investigando sobre materiales híbridos basados en ADN origami para uso en nanoelectrónica. Un ejemplo de ello ha sido la obtención de un molde rectangular bidimensional de ADN origami en cuyos dos lados se consiguieron colocar poblaciones diferentes de nanotubos de carbono de una sola capa por hibridación. Mediante esta configuración de los nanotubos de carbono es posible la formación de uniones cruzadas entre los mismos lo que hace que el conjunto se comporte como un transistor de efecto campo. Otro ejemplo dentro de esta materia consiste en el uso de la conjugación biotina-estreptavidina para el ensamblaje de nanotubos de carbono de una sola capa sobre un molde de ADN origami y la metalización de ADN origami ramificado para la fabricación de nanocircuitos.^{1,2}

4. CONCLUSIONES

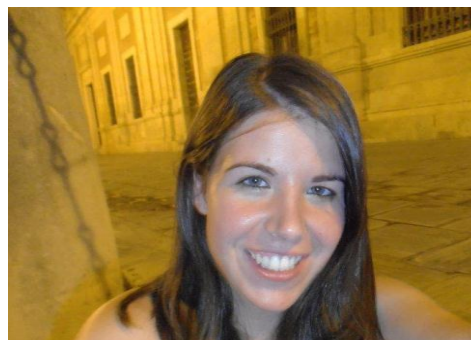
Además de las aplicaciones mencionadas existen numerosos usos futuros pensados para el ADN origami, desde la robótica, pasando por la energía alternativa, hasta el diseño de ribosomas artificiales que generen enzimas a la carta. La simplicidad del método y su flexibilidad son sus principales bazas para el éxito, aunque aún queda mucho camino por recorrer, el ADN origami ya ha comenzado a dar sus primeros pasos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 874 – 890. *DNA Origami: The Art of Folding DNA*. Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 58–66.
- [2]. Nicole Michelotti et al. *Beyond DNA origami: A look on the bright future of nucleic acid nanotechnology* Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. 2012; 4(2): 139–152.
- [3]. Arivazhagan Rajendran, Masayuki Endo and Hiroshi Sugiyama. *Single-Molecule Analysis Using DNA Origami*. Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 874 – 890.
- [4]. Yong-Xing Zhao, Alan Shaw, Xianghui Zeng, Erik Benson, Andreas M. Nystrom, and Bjorn Hogberg. *DNA Origami Delivery System for Cancer Therapy with Tunable Release Properties*. ACS Nano. 2012 VOL. 6 NO. 10 8684–8691
- [5]. Thomas Tørringa, Niels V. Voigta, Jeanette Nangreaveb, Hao Yanb, and Kurt V. Gothelfa. *DNA origami: a quantum leap for self-assembly of complex Structures*. Chem Soc Rev. 2011 December; 40(12): 5636–5646
- [6]. Hari K. K. Subramanian, Banani Chakraborty, Ruojie Sha, and Nadrian C. Seeman. *The Label-Free Unambiguous Detection and Symbolic Display of*

Single Nucleotide Polymorphisms on DNA Origami. Nano Lett. 2011 February 9; 11(2): 910–913

[7]. Qian Mei, Xixi Wei, Fengyu Su, Yan Liu, Cody Youngbull, Roger Johnson, Stuart Lindsay, Hao Yan, and Deirdre Meldrum. *Stability of DNA Origami Nanoarrays in Cell Lysate*. Nano Lett. 2011 April 13; 11(4): 1477–1482.



Artículo realizado por Andrea Valencia Expósito.

Síntesis y Caracterización de Nanobees para su uso en Terapia Anticancerígena

María Luisa Gil Marqués

Resumen— Los péptidos citolíticos son unos candidatos muy atractivos para el tratamiento del cáncer por sus propiedades líticas. Sin embargo, debido a su toxicidad, inespecificidad y desfavorable farmacocinética, no es posible desarrollar su potencial terapéutico sin un sistema de distribución adecuado. Las propiedades físicas de las nanopartículas de perfluorocarbono (PFC) las hace un prometedor vehículo para aplicar los péptidos citolíticos en clínica, en concreto la melitina. Este artículo analiza la posible aplicación de la melitina en la terapia contra el cáncer y las ventajas de las nanopartículas de PFC sobre los sistemas de distribución tradicionales, como los liposomas.

Palabras Claves— Cáncer, Citolíticos, Melitina, Nanopartículas, Perfluorocarbono.

1. INTRODUCCIÓN

Los péptidos de defensa son una clase de pequeños péptidos anfipáticos (10-50 aminoácidos) que se encuentran en la mayoría de las células eucariotas y realizan diversas funciones, con propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas o antibióticas. [1] Se denominan péptidos citolíticos y son unos candidatos muy atractivos para el tratamiento del cáncer debido a sus propiedades líticas. [2] Estos péptidos se asocian con las membranas celulares, se desplazan lateralmente y oligomerizan generando defectos estructurales en las membranas como, por ejemplo, poros. [1] Tras el paso al interior celular, pueden atacar los orgánulos de la misma forma e inducir la muerte celular. Sin embargo, la actividad lítica inespecífica y la rápida degradación enzimática que sufren estos péptidos en la sangre ha limitado su aplicación clínica en el tratamiento de enfermedades. [2] Aún así, sigue investigándose en cómo emplear estos péptidos como tratamiento con-

tra el cáncer. Una posibilidad es fusionarlos con motivos peptídicos que sean reconocidos por receptores de las células tumorales para dirigir específicamente la actividad citolítica de los péptidos. Sin embargo, la principal dificultad es desarrollar una formulación que sea segura para el uso clínico y que elimine los efectos inespecíficos. [1] Desafortunadamente, los péptidos citolíticos manifiestan su ataque a las membranas en los sistemas tradicionales de bicapa lipídica para la liberación de fármacos, como los liposomas, lo que ha obstaculizado su uso *in vivo*. Este problema puede solventarse empleando nanopartículas de perfluorocarbono (PFC) para la distribución de los péptidos. [2]

Las nanopartículas de PFC consisten en un núcleo de PFC hidrofóbico y lipofílico rodeado por una monocapa lipídica surfactante que lo estabiliza. Los PFC son compuestos orgánicos sintéticos en los que la mayoría de los átomos de hidrógeno se han sustituido por átomos de flúor. Esta sustitución hace que los compuestos tengan propiedades

únicas y que sean seguros para la salud. [3] Actualmente existe un proceso de autoensamblaje para la inserción de los péptidos citolíticos en las nanopartículas de PFC preformuladas, que los alojan en la monocapa lipídica sin perder su integridad estructural. [2] De esta forma, estos péptidos no se ven afectados por los cambios de pH, sonicación o emulsificación que podrían degradarlos, por lo que mantienen su actividad. [4]

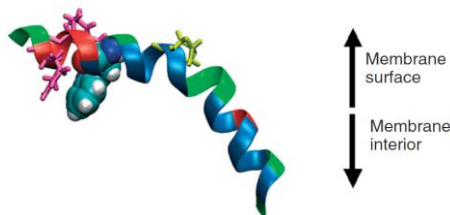


Fig. 1. Estructura de la melitina: triptófano, azul; prolina, amarillo; arginina y lisina, rosa. [1]

Uno de los posibles péptidos a utilizar es la melitina (Fig 1), que es un péptido citolítico constituido por una α -hélice de 26 aminoácidos (GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ), soluble en agua, catiónico y anfipático, que deriva del veneno de la abeja de la miel *Apis mellifera*. [4] Éste es un péptido muy inespecífico que ataca todas las membranas lipídicas generando toxicidad cuando se inyecta por vía intravenosa. [1] La base de la acción de la melitina consiste en una disrupción física y química de las membranas que produce lisis celular. La melitina, al igual que otros péptidos citolíticos, es un atractivo candidato para la quimioterapia contra el cáncer por dos razones: las células cancerosas no suelen desarrollar resistencia a formadores de poros en las membranas, y la combinación de un fármaco quimioterápico (paclitaxel, doxorubicina...) junto con la melitina podría dar resultados sinérgicos, reduciendo la dosis terapéutica requerida de cada uno de ellos. [4] Además, la melitina es un alérgeno débil, comparado con los otros componentes del veneno de la abeja, por lo que no induce respuesta inmune debido a su pequeño tamaño y a la rápida inactivación, vía péptidasas, que sufre *in vivo*. [1]

La melitina se une a las nanopartículas y conserva su actividad de formación de poros cuando contactan con un liposoma, demostrando la efectividad de las nanopartículas. [2] Estas nanopartículas de PFC pueden ser los vehículos ideales para los péptidos citolíticos terapéuticos debido a la hidrofobicidad del núcleo de PFC, que impide la formación de poros de forma eficaz y la destrucción de las nanopartículas por los péptidos, a la presencia de una membrana lipídica que puede albergar péptidos anfipáticos como la melitina y a la facilidad de añadir ligandos de direccionamiento unidos por medio de anclajes lipídicos. [4]

Hua Pan et al. han formulado nanopartículas de PFC que transportan melitina (Nanobeas), y han verificado la incorporación de la melitina mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR), medición de la fluorescencia del triptófano y espectroscopía de dicroísmo circular (CD). Finalmente han demostrado que la melitina puede des-

plazarse desde la monocapa de la nanopartícula hasta un modelo de bicapa lipídica (liposoma), mediante hemifusión, y generar poros en la membrana. [2]

2. PREPARACIÓN DE LA NANOESTRUCTURA LIPÍDICA

2.1. Preparación de las nanopartículas de PFC

Las nanopartículas de PFC están formadas por un núcleo de PFC rodeado por una monocapa lipídica. Para preparar estas nanopartículas se utiliza una mezcla de los surfactantes lipídicos fosfatidilcolina y dipalmitoilfosfatidiletanolamina. Sin embargo, se pueden añadir otros componentes lipídicos según las necesidades experimentales. La mezcla de lípidos/surfactante se disuelve en cloroformo, que se evapora al reducir la presión, y se seca en un horno de vacío a 50°C, antes de ser dispersada en agua por sonicación para generar una suspensión de liposomas. [2] Tras combinarla con un PFC (bromuro de perfluorooctilo, PFOB, 20% v/v) [3] y destilarla en agua desionizada, la suspensión se emulsiona por sonicación. La mezcla emulsionada es transferida a un emulsionante e incubada durante 4 min en un baño de hielo. Este procedimiento es suficiente para producir nanopartículas de PFC de 250 nm de diámetro hidrodinámico medio con baja polidispersión en tamaño. [2] Estas nanopartículas son estables durante al menos 3 meses cuando se almacenan a 4°C en viales sellados y cubiertos con nitrógeno, y su composición es 20% (v/v) de PFOB, 2% (p/v) de la mezcla de surfactantes y agua. [3]

2.2. Incorporación de los péptidos en la nanoestructura lipídica

En la monocapa lipídica de la nanopartícula es donde se anclan los agentes que tienen acción terapéutica. [2] Para generar las nanopartículas de PFC que transportan melitina, es necesario mezclar melitina en buffer salino con fosfato con las nanopartículas ya formuladas diluidas en PBS. Esta mezcla se incuba a temperatura ambiente durante 10 min y, posteriormente, se centrifuga lava dos veces para eliminar la melitina que queda libre en el sobrenadante. [2]

La carga de la melitina en las nanopartículas se realiza tras la formulación, gracias a la interacción de los péptidos catiónicos y anfipáticos con la membrana lipídica. La melitina se sitúa en la monocapa lipídica debido a su inmiscibilidad en el núcleo hidrofóbico de PFC. Por tanto, es necesario optimizar varios parámetros, como la composición lipídica, el tamaño de las nanopartículas, la concentración del péptido, la fuerza iónica de la mezcla y la temperatura y duración de la incubación, para cada aplicación específica. [2]

Además de la melitina, se pueden añadir determinados ligandos para que la nanopartícula interaccione de forma específica con la célula de interés y realice su acción en ella. Es posible incorporar múltiples copias del ligando, así como de melitina, en una misma nanopartícula, de-

pendiendo de su tamaño, lo que permite aumentar la cantidad de agente terapéutico que llega al lugar de destino. [3]

Se pueden generar nanopartículas de PFC con el péptido vitronectina. La vitronectina es una glicoproteína de 75 kDa que se encuentra en el suero y en la matriz extracelular. Contiene un dominio Arg-Gly-Asp que es un sitio de unión para las integrinas, como la $\alpha_v \beta_3$ -integrina. [5] Esta integrina es un marcador general de angiogénesis y juega un importante papel en varias enfermedades, como la aterosclerosis. Es una molécula de adhesión que se expresa en células endoteliales, monocitos, fibroblastos y células musculares, e interviene en la migración y adhesión de las células de músculo liso, necesaria en la formación de nuevos vasos sanguíneos. La utilidad de las nanopartículas que tienen como diana la $\alpha_v \beta_3$ -integrina es la detección y caracterización de la angiogénesis asociada con la expresión de factores de crecimiento, crecimiento tumoral y aterosclerosis. [6]

Para incorporar la vitronectina en las nanopartículas de PFC, se conjuga este péptido a polietilenglicol₂₀₀₀-fosfatidiletanolamina, y esta mezcla se añade a la emulsión que contiene las nanopartículas. De esta forma se crean nanopartículas con una diana específica. [5]

3. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS NANOPARTÍCULAS CARGADAS CON PÉPTIDOS

La distribución hidrodinámica del tamaño de las nanopartículas puede analizarse mediante dispersión dinámica de luz (DLS). [2] El diagrama generado por DLS se emplea junto a los datos de fuerza iónica, temperatura, viscosidad, índice de refracción y geometría de la partícula para calcular el tamaño hidrodinámico medio o la distribución de tamaños. [4] El tamaño hidrodinámico medio de estas nanopartículas es de 250 nm (200-400 nm). [2]

Posteriormente, se mide el potencial zeta, que representa la carga superficial de las nanopartículas y refleja su estabilidad en el tiempo. Cuanto mayor sea el potencial zeta, en valor absoluto, mayor será la fuerza repulsiva y más estable será la suspensión de partículas. [2] El potencial zeta de estas nanopartículas, cuando el ratio lípidos:melitina es 30, es de 17,82 mV. [4]

Para analizar la morfología e integridad de las nanopartículas, éstas se visualizan mediante microscopía electrónica. [2] Se comprueba que su estructura esférica no se ha modificado tras la inserción de la melitina en la monocapa lipídica (Fig 2a, b). Sin embargo, la interacción de la melitina con los liposomas genera un poro en la bicapa lipídica que se esquematiza en la figura 2c. Por tanto, la melitina puede interaccionar con la emulsión de PFC sin formar un poro transmembrana que degrade la nanopartícula. [4]

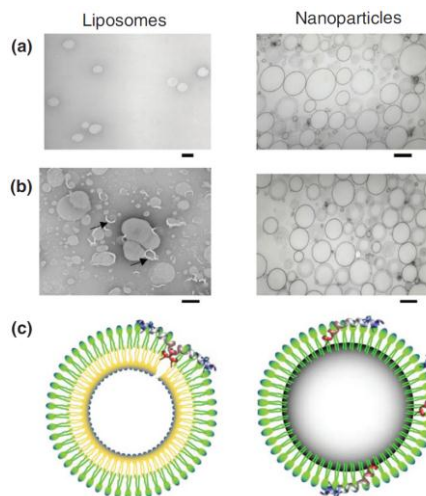


Fig. 2. Micrografías de transmisión electrónica de liposomas y nanopartículas de PFC de idéntica composición lipídica antes (a) y después (b) de la incorporación de la melitina. Las flechas indican los puntos de ruptura de la membrana de los liposomas. Barras de escala=100 nm. (c) Esquema de la estructura de la nanopartícula de PFC con la melitina insertada en la monocapa de fosfolípidos. Se muestra también un diagrama de la melitina perforando la membrana de un liposoma. [1]

La cuantificación de la carga peptídica se realiza midiendo la fluorescencia intrínseca de la muestra debido a la presencia de triptófano en la melitina. Concretamente, para determinar la carga peptídica, se mide la cantidad de péptido libre que queda en el sobrenadante en cada centrifugación. La intensidad de la fluorescencia permite calcular la cantidad de péptido empleando una curva de calibrado. [2]

La inserción de los péptidos en la membrana lipídica de las nanopartículas puede estudiarse mediante resonancia del plasmón de superficie (SPR). La SPR puede evaluar directamente la disociación de los péptidos de las estructuras lipídicas inmovilizadas, lo que proporciona una estimación de su estabilidad. [2] La constante de disociación para la unión de la melitina en la membrana lipídica de las nanopartículas determinada por SPR es de 3,27 nM. [4]

Para determinar la estructura secundaria de los péptidos integrados en las nanopartículas se emplea el dicroísmo circular (CD). [2] Se obtienen dos picos negativos, uno a 228 nm y otro a 208 nm, cuando la melitina se asocia a la monocapa lipídica de la nanopartícula. Estos picos son característicos de la configuración en α -hélice. Por tanto, la melitina se encuentra en la nanopartícula en conformación α -hélice, al igual que en los liposomas, lo que permite la transferencia de la melitina desde la nanopartícula de PFC a las membranas celulares en bicapa durante la interacción de las nanopartículas con las dianas celulares. [4]

5. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO Y SEGURIDAD

Una vez que las partículas se unen a la diana, interactúan debido a la presencia de múltiples ligandos en su superficie. No hay ningún cambio detectable en la morfología del tejido ya que sólo se forma una única capa de nanopartículas sobre la diana, es decir, no pueden seguir acumulándose y formar un coágulo pues no se unen unas a otras. Estas nanopartículas tienen un tamaño óptimo para poder distribuirse a través de los distintos tejidos. [3]

Los fosfolípidos naturales son los más empleados como surfactantes debido a su biocompatibilidad. La biocompatibilidad de los fluorocarbonos líquidos ha sido también comprobada; la mayoría son inocuos y fisiológicamente inactivos. El más utilizado es el PFOB, que tiene una vida media de residencia de 4 días y no es metabolizado. Los lípidos pueden ser reciclados y el perfluorocarbono es exhalado mediante los pulmones. El resto de componentes (proteínas) pueden ser degradados en el lugar de acción. Las partículas que no se unen son eliminadas por el hígado y el bazo. Los análisis farmacocinéticos indican que el tiempo de aclaramiento es de 3 a 6 horas. [3]

La vida media de la melitina libre es de $0,79 \pm 0,05$ minutos. A las 2 horas la mayoría de la melitina ha sido secuestrada en el bazo, hígado y pulmones. [7]

Los PFC pueden provocar toxicidad aguda a altas concentraciones; su LD50 es de 30-41 g PFC/kg de peso corporal, lo que constituye 200 veces más de la cantidad empleada en las nanopartículas, por lo que no hay riesgo de intoxicación. Los síntomas clínicos son dolor de cabeza, náuseas, fiebre, etc. [3]

6. APLICACIONES CLÍNICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PFC

Las nanopartículas de PFC son efectivas para imagen molecular y distribución sitio-específica de fármacos en varios desórdenes patológicos, incluyendo la aterosclerosis y el cáncer. [2] Se han realizado estudios en los que estas nanopartículas pueden transportar paclitaxel o doxorubicina para terapia anticancerígena. [3]

Otra de las aplicaciones posibles de estas nanopartículas de PFC con melitina es como viricida vaginal para inhibir el VIH-1, gracias a que este virus posee una bicapa lipídica en la que la melitina puede generar poros. [8]

La aplicación en la que más se ha profundizado es la utilización de las nanopartículas de PFC con melitina *in vivo* contra el cáncer. Se sabe que las nanopartículas de PFC pueden interactuar con células diana específicamente cuando se incorpora un ligando en ellas. En el estudio realizado se emplearon células endoteliales de ratón (2F2B) y de melanoma humano (C-32) que expresan la $\alpha_V \beta_3$ -integrina para comprobar esta interacción específica.

4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PFC

Para ser distribuidores efectivos de agentes terapéuticos, las nanopartículas deben transferir la melitina (o cualquier otro fármaco) rápidamente en su forma activa a la membrana de la diana específica, por lo que debe establecerse una conexión entre ambos sistemas membranosos. Para estudiar el mecanismo de interacción se emplearon liposomas. Lo que se observó es que se produce una hemifusión entre la membrana de la nanopartícula y la membrana externa del liposoma; y esto permite el movimiento de péptidos, como la melitina, desde la monocapa lipídica de la nanopartícula a la membrana diana (Fig 3). Esta interacción se visualizó mediante microscopía electrónica (Fig 4). [4]

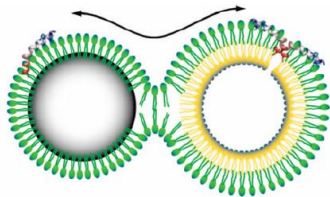


Fig. 3. Esquema del modelo de hemifusión entre la nanopartícula y el liposoma propuesto. [4]

Para comprobar la capacidad de la melitina, unida a las nanopartículas, para generar poros en la membrana de los liposomas, se mezclan las nanopartículas de PFC con melitina con una suspensión de liposomas que contienen carboxifluoresceína en su interior. Lo que se observa es una rápida disminución de la fluorescencia debido a que la melitina ha formado poros en la membrana del liposoma y la carboxifluoresceína se ha escapado por estos poros. Por tanto, la melitina es totalmente activa cuando se encuentra en las nanopartículas de PFC y, como es necesario que la melitina forme multímeros para generar un poro, se sabe que una única nanopartícula puede transferir varios péptidos de melitina a un mismo liposoma. [4]

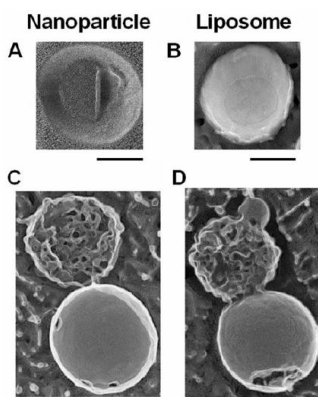


Fig. 4. (A) Nanopartícula de PFC. (B) Liposoma. (C y D) Interacción de las nanopartículas de PFC con liposomas. Barras de escala=100 nm. [4]

Para ello, se añadieron a las nanopartículas 200 copias de vitronectina, un ligando de unión a $\alpha_v \beta_3$ -integrina, y mediante microscopía de transmisión electrónica se confirmó la interacción. En ausencia de la vitronectina muy pocas nanopartículas se asociaban con las células y disminuía la actividad lítica de la melitina, mientras que cuando se añadía la vitronectina, aumentaba 4 veces la interacción de las nanopartículas con las células, así como la actividad lítica de la melitina. Se observaba una gran cantidad de nanopartículas unidas a los microvilli de las células C32 (Fig 5). Por tanto, el incremento en la unión de las nanopartículas con las células, aumentaba la actividad de estas nanopartículas. [1]

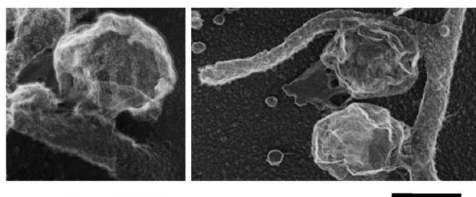


Figura 5. Micrografía electrónica que muestra la interacción entre las nanopartículas de PFC con melitina y vitronectina y los microvilli de las células de melanoma C32. Barras de escala=200 nm. [1]

Se ha evaluado la eficacia de estas nanopartículas en ratones inmunocompetentes C57BL/6 a los que se les había implantado un melanoma subcutáneo B16F10, el cual secreta factores de crecimiento angiogénicos. Tras 4 inyecciones intravenosas de nanopartículas se observó una reducción en el crecimiento del melanoma. El peso del tumor en los ratones tratados con nanopartículas de PFC con melitina a día 14 era de $0,23 \pm 0,19$ g, comparado con $1,87 \pm 0,86$ g en los ratones sin tratar (se les administra suero) y $1,80 \pm 0,69$ g en los ratones tratados con nanopartículas de PFC sin melitina (Fig 6). Los análisis histológicos revelaron una disminución en el número de vasos sanguíneos y de células en proliferación, y la existencia de áreas de necrosis en el tumor tratado. Por tanto, las nanopartículas de PFC con melitina producen la muerte celular. [1]

En otros experimentos *in vitro* en células C32, se observó que estas nanopartículas, a una concentración de $12,5 \mu\text{M}$, provocan fundamentalmente apoptosis. [1] Por tanto, dependiendo del tipo celular la melitina provoca apoptosis o necrosis en la célula.

Además, también se han realizado otros estudios con cáncer de mama humano (MDA-MB-435) y una lesión precancerosa en ratones K14-HPV16 con displasia escamosa con resultados positivos. [7]

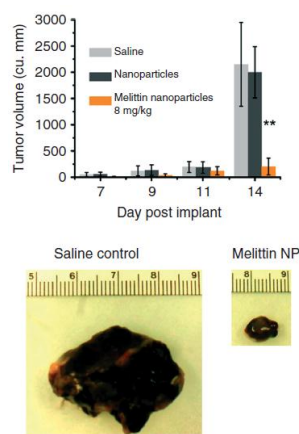


Figura 6. Eficacia terapéutica de las nanopartículas de PFC con melitina en ratones con melanoma B16F10. La gráfica muestra el aumento en el volumen del tumor durante el tratamiento con nanopartículas con melitina, con suero salino y con nanopartículas sin melitina. [1]

7. CONCLUSIONES

En este estudio se ha diseñado, formulado, caracterizado y evaluado la utilidad de las nanopartículas de perfluorocarbono como vehículos para la distribución de melitina. La formulación de estos vehículos tiene un gran reto: el mantenimiento de la estructura y actividad del péptido. Los resultados indican que las nanopartículas de PFC mantienen su integridad estructural incluso tras la adición de melitina, a diferencia de lo que ocurre en otros sistemas de distribución de fármacos como los liposomas, por su alta tensión superficial y el núcleo hidrofóbico de PFC. Por tanto, las nanopartículas con este núcleo, u otro similar, pueden ser grandes candidatos para su uso como transportadores de péptidos anfipáticos a membranas celulares *in vivo*.

Estas nanopartículas de PFC con melitina tienen otra ventaja sobre los liposomas: la distribución de fármacos con liposomas requiere la endocitosis del liposoma completo seguida de la liberación del fármaco del endosoma. En cambio, el mecanismo de transporte del fármaco en las nanopartículas de PFC no requiere de esta endocitosis, únicamente requiere la unión entre los lípidos de la superficie de la nanopartícula y los de la célula diana. Así, los fármacos que se encuentran en la superficie de la nanopartícula de PFC pueden difundir hacia la membrana lipídica de la célula y, finalmente, ser transportados al citoplasma a través de procesos de internalización.

En los estudios que hemos analizado se emplea una estrategia de inserción de los péptidos en las nanopartículas una vez que éstas ya han sido formuladas, por lo que los péptidos pueden insertarse en las nanopartículas mediante una simple etapa de mezcla, lo que facilita el proceso de producción y que la preparación de los componentes

sea estéril. Todo ello hace que este sistema de producción de nanopartículas funcionales sea prometedor para aplicaciones clínicas como la terapia anticancerígena, imagen molecular, terapia contra el VIH, etc.

REFERENCIAS

- [1] Hua Pan et al., "Cytolytic peptide nanoparticles ('NanoBees') for cancer therapy," *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.*, vol. 3, no.3, pp. 1-9, May-Jun 2011, doi: 10.1002/wnan.126.
- [2] Hua Pan et al., "Postformulation Peptide Drug Loading of Nanostructures," *Methods in Enzymology*, Vol 508, Nejat Düzgünes, Burlington: Academic Press, pp. 17-39, 2012.
- [3] Samuel A. Wickline et al., "Fluorocarbon Agents For Quantitative Multimodal Molecular Imaging And Targeted Therapeutics," *Molecular Imaging*, pp. 542-573, 2010.
- [4] Neelesh R. Soman et al., "Synthesis and Characterization of Stable Fluorocarbon Nanostructures as Drug Delivery Vehicles for Cytolytic Peptides," *Nano Lett.*, vol. 8, no. 4, pp. 1131-1136, April 2008, doi:10.1021/nl073290r.
- [5] Patrick M. Winter et al., "Molecular Imaging of Angiogenesis in Early-Stage Atherosclerosis With $\alpha\gamma$ β 3-Integrin-Targeted Nanoparticles," *Circulation*, vol. 108, pp. 2270-2274, Nov 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000093185.16083.95.
- [6] Samuel A. Wickline et al., "Applications of Nanotechnology to Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology," *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, vol. 26, no. 3, pp. 435-441, Mar 2006.
- [7] Neelesh R. Soman et al., "Molecularly targeted nanocarriers deliver the cytolytic peptide melittin specifically to tumor cells in mice, reducing tumor growth," *J Clin Invest*, vol. 119, no. 9, pp. 2830-2840, Sep 2009, doi: 10.1172/JCI38842.
- [8] Joshua L Hood et al., "Cytolytic nanoparticles attenuate HIV-1 infectivity," *Antivir Ther.*, vol. 18, no. 1, pp. 95-103, 2013, doi: 10.3851/IMP2346.



María Luisa Gil Marqués recibió el título de Licenciada en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide en 2012. Actualmente estudia el Máster de Biotecnología Sanitaria en la Universidad Pablo de Olavide. Su interés investigador incluye la microbiología, la genética y la biología molecular.

MOLEQLA NUTRICIONAL



Portada realizada por Isabel

Vitamina C: Del tratamiento del escorbuto a la lucha contra el cáncer

Pedro Manuel Medina Venegas

Resumen— Desde que fuese identificada como antiescorbútico, la vitamina C ha sido empleada para prevenir y tratar las más diversas afecciones, y durante mucho tiempo no pocos la han considerado una especie de remedio milagroso. Dejando a un lado los aspectos más polémicos y discutibles relativos a algunas de las propiedades que se le atribuyen, es innegable que este nutriente esencial desempeña un importante papel como intermediario metabólico, en el desarrollo y mantenimiento del tejido conjuntivo o en la protección de las células frente al estrés oxidativo.

Palabras Claves— Antioxidante, Ascórbico, Cáncer, Metabolismo, Vitamina.

1. HISTORIA Y DESCUBRIMIENTO

La necesidad de incluir frutas y verduras frescas en la dieta con el objetivo de prevenir diversas enfermedades es conocida desde antiguo. Así, entre los remedios tradicionales de muchas culturas se incluía la elaboración de infusiones curativas a partir de las raíces y hojas de ciertas plantas que posteriormente se revelaron como fuentes de vitamina C.

Pese a ello, los primeros estudios relativos a este nutriente esencial se remontan a la época de los largos viajes transoceánicos, durante los cuales el escorbuto diezmaba las tripulaciones de los barcos. Esta enfermedad, que provocaba encías sangrantes y lenta cicatrización de heridas y terminaba causando la muerte, se intentó paliar con muy diversos tratamientos hasta que, en el siglo XVIII, el médico británico James Lind demostró que el escorbuto remitía con el consumo de cítricos frescos. Para ello, llevó a cabo uno de los primeros ensayos de terapia controlada de la historia de la medicina: dividió a pacientes con esta afección en distintos grupos, administrando a cada uno de ellos distintas sustancias (tales como agua salada, lejía diluida o zumo de limón) y estudiando su evolución. Sin embargo, el conocimiento del remedio del escorbuto no se tradujo en el descubrimiento inmediato del compuesto cuya carencia lo causaba.

Así pues, no fue hasta bien entrado el siglo XX cuando se consiguió aislar el ácido ascórbico (llamado entonces ácido hexurénico) y se estudiaron su estructura y funciones biológicas. Diversos investigadores trabajaron en la síntesis artificial de este compuesto y en la determinación de su actividad metabólica, hasta que Haworth y Szent-Györgi recibieron en 1937 los premios Nobel de Química y Medicina, respectivamente, por sus investigaciones sobre la configuración y características funcionales del ácido ascórbico. [1]

2. BIOSÍNTESIS Y CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

La vitamina C puede ser sintetizada de forma natural por la mayoría de organismos a partir de D-glucosa o D-galactosa, pero ciertas especies, como los primates (incluido el ser humano), las cobayas o algunos

murciélagos frugívoros, carecen de una de las enzimas involucradas en la ruta de síntesis (L-gulonolactona oxidasa) y necesitan incorporarla en la dieta, principalmente a través de frutos cítricos y vegetales, pero también por medio de suplementos vitamínicos sintéticos [Fig. 1].



Fig. 1. Las verduras y frutas frescas, especialmente los cítricos, son la principal fuente de vitamina C para los organismos incapaces de sintetizar este nutriente esencial.

La vitamina C es el enantiómero levógiro del ácido ascórbico, careciendo la versión dextrógiro de este compuesto de actividad biológica significativa. Se trata de una sustancia cristalina e inolora de color blancuzco y sabor ácido, soluble en agua e insoluble en disolventes orgánicos. La molécula de ascórbico es muy inestable y se ve alterada por contacto con el aire o con la luz, por el calor y por variaciones de pH y puede destruirse con facilidad durante el procesado de los alimentos o si estos sufren un almacenamiento prolongado. [2]

3. METABOLISMO Y FUNCIÓN BIOLÓGICA

La vitamina C es asimilada por el organismo en forma de ácido ascórbico o dehidroascórbico, siendo absorbida a través de la mucosa bucal, el estómago o el intestino delgado. Posteriormente es transportada hasta el hígado vía vena porta y, desde allí, es distribuida a los tejidos que la requieran. Esta vitamina hidrosoluble no se almacena en el organismo y es rápidamente excretada, principalmente por vía renal, en forma de ácido oxálico

[Fig. 2]. Su toxicidad no es muy elevada y, en caso de acumulación excesiva, provoca, a lo sumo, desórdenes gastrointestinales.

La actividad fisiológica de este compuesto está íntimamente relacionada con su intervención en reacciones de óxido-reducción. Así, actúa como cofactor de enzimas hidroxilasas y mono oxigenasas manteniendo el sitio de interacción con iones metálicos en estado

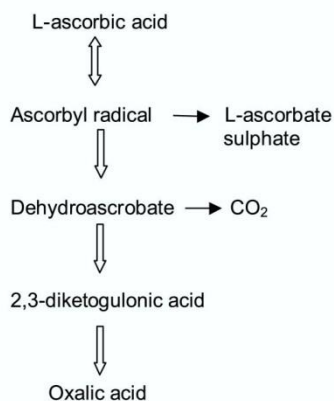


Fig. 2. Catabolismo del ácido ascórbico. El ácido ascórbico y el dehidroascorbato forman un par redox que interviene como cofactor en múltiples reacciones metabólicas.

reducido, favoreciendo así una actividad enzimática óptima.

De esta forma, el ácido ascórbico juega un importante papel en la síntesis y mantenimiento de colágeno, la proteína más abundante del organismo y componente fundamental de cartílagos, tendones, huesos, piel, dientes o vasos sanguíneos. La ruta metabólica es bastante compleja y la intervención de la vitamina C es muy peculiar: no interviene en la reacción principal (formación de procolágeno e hidroxilación de residuos de prolina y lisina para plegar la estructura formando la triple hélice característica de esta proteína), sino que sirve de coenzima auxiliar, imprescindible para reconducir los productos intermedios de reacciones espurias, evitando así el bloqueo del enzima principal.

Por otra parte, la vitamina C es fundamental en la síntesis de cartinina, proteína esencial para el transporte de ácidos grasos hacia las mitocondrias de las células musculares, donde podrá ser empleada para producir energía. También participa en la conversión del neurotransmisor dopamina en norepinefrina, en la síntesis de catecolaminas (neurotransmisores vertidos al torrente sanguíneo) o en reacciones de amidación que favorecen la actividad de hormonas como la oxitocina, la vasopresina o la alfamelanotropina.

Además, el ascórbico interviene en la transformación del colesterol en ácidos biliares, proceso que ocurre en el hígado y es fundamental para evitar la formación de trombos o la hipercolesterolemia. Finalmente, su carácter antioxidante y reductor le permite paliar la acción perjudicial de los radicales libres y mejorar la absorción de hierro no hemínico procedente sobre todo de alimentos vegetales. [3]

4. APLICACIONES TERAPÉUTICAS

Las propiedades y características funcionales de este compuesto lo han hecho especialmente indicado para el tratamiento de múltiples enfermedades. No obstante, muchos de los usos que se le han dado tradicionalmente podrían no tener justificación científica. Este es el caso, por ejemplo, de su empleo como paliativo del resfriado común y activador del sistema inmunitario. Linus Pauling propuso la administración de ácido ascórbico para prevenir el resfriado o aliviar sus síntomas. No obstante, a día de hoy no hay datos concluyentes que permitan establecer una relación directa entre la acción de la vitamina C y una regresión significativa de la afección (con todo, parece que dosis elevadas de ascórbico podrían ser beneficiosas a nivel preventivo) [4]. Tampoco está claro que la vitamina C sea capaz de inducir la actividad del sistema inmune, si bien ciertos estudios sugieren que el ácido ascórbico podría bloquear la apoptosis de los linfocitos T, lo cual supondría una activación temprana de los linfocitos B que incrementaría la eficiencia de la respuesta inmunitaria [5].

Por otra parte, la vitamina C ha probado sobradamente su eficiencia en el tratamiento de otras muchas afecciones. Así, el ácido ascórbico, que promueve la síntesis de colágeno, es de gran utilidad para optimizar procesos de cicatrización de heridas, reducir la duración de postoperatorios y potenciar la regeneración de la piel tras sufrir quemaduras.

También es un remedio eficaz en la prevención y tratamiento de la arteriosclerosis, ya que evita la modificación oxidativa de LDL al neutralizar los radicales libres presentes en la célula [Fig. 3] y previene la peroxidación de los lípidos endoteliales [6]. Por todo ello, puede emplearse la vitamina C, combinada con hábitos de vida saludables y una dieta equilibrada, para prevenir enfermedades cardiovasculares.

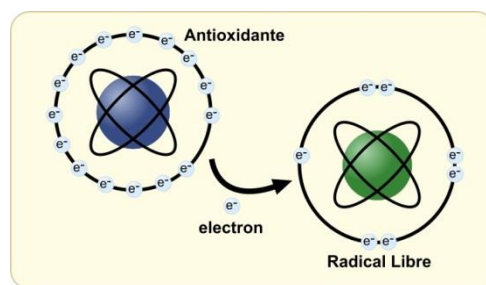


Fig. 3. Mecanismo de neutralización de los radicales libres. Muchos de los efectos terapéuticos y preventivos de la vitamina C derivan de su poder antioxidante.

Mención especial merece el controvertido papel de la vitamina C en el tratamiento del cáncer. A pesar de que el mecanismo de acción del ácido ascórbico en este ámbito sigue siendo un misterio, hay múltiples hipótesis al respecto: inicialmente se pensó que la síntesis de colágeno favorecida por esta molécula podría frenar la expansión del tumor, provocando finalmente la regresión del mismo. No obstante, la idea más aceptada en la actualidad deriva del poder antioxidante de la vitamina C: podría neutralizar los radicales libres antes de que éstos

provocasen daños en el ADN que iniciasen la formación del tumor. Además, la facilidad del ácido ascórbico y sus derivados para atravesar las membranas celulares los hacen especialmente indicados para frenar los procesos de metástasis. Diversos estudios respaldan el efecto beneficioso de la vitamina C a la hora de reducir la propensión de células de ratones para desarrollar tumores y reducir la proliferación de células cancerosas humanas [7]. Otra hipótesis diferente sugiere que el ácido ascórbico podría impedir la progresión de los tumores al interferir en el ciclo celular, induciendo la apoptosis de las células cancerosas. Con todo, parece claro que el papel de esta sustancia sería más preventivo que paliativo, aunque podría mejorar la calidad y la esperanza de vida de los pacientes. No obstante, hay que tener en cuenta que el uso de vitamina C combinado con quimioterapia podría ser contraproducente, ya que el tratamiento radiactivo induce a la muerte de las células tumorales por mecanismos oxidativos y el ácido ascórbico (potente antioxidante) podría neutralizar este efecto.

5. CONCLUSIONES

Si bien los descubrimientos recientes parecen rebajar el optimismo inicial con que los investigadores describieron las aplicaciones y usos terapéuticos de la vitamina C, resulta obvio que este nutriente esencial es, en virtud de sus propiedades antioxidantes y su participación en relevantes reacciones metabólicas, capaz de proporcionar muy diversos beneficios al organismo (fundamentalmente de tipo preventivo). Además, ofrece apasionantes perspectivas de futuro en campos tan relevantes y significativos como la lucha contra el cáncer o las enfermedades degenerativas, en los que la vitamina C aún tiene mucho que decir.

REFERENCIAS

- [1] Web del Instituto del Metabolismo Celular. <http://www.metabolismo.biz/web/historia-de-la-vitamina-c/>
- [2] M. Illera, J. M. Illera, J. C. Illera, *Vitaminas y minerales*. Madrid: Editorial Complutense, pp. 69-74, 2000.
- [3] K. A. Naidu, "Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview," *Nutrition Journal*, online publication, Aug 2003, doi: 10.1186/1475-2891-2-7.
- [4] E. Chalker, H. Hernilä, "Vitamin C for preventing and treating the common cold," *Cochrane Database Syst. Rev*, CD 000980, Jan 2013, doi: 10.1002/14651858.
- [5] J. D. Campbell, M. Cole, B. Bunditratavom, A. T. Vell, "Ascorbic acid is a potent inhibitor of various forms of T cell apoptosis," *Cell Immunology*, vol. 194, pp. 1-5, 1999, doi: 10.1006/cimm.1999.1485.
- [6] A. Dasgupta, T. Zudnek, "In vitro lipid peroxidation of human serum catalyzed by copper ion: antioxidant rather than pro-oxidant role of ascorbate," *Life Science*, vol. 50, pp. 2875-2882, 1992, doi: 10.1016/0024-3205(92)90206-5.
- [7] M. W. Roomi, D. House, M. Eckert-Maksic, Z. B. Maksic, C.S. Tsao, "Growth suppression of malignant leukemia cell line in vitro by ascorbic acid (Vitamin C) and its derivatives," *Cancer Letters*, vol. 122, pp. 93-99, 1998, doi: 10.1016/S0304-3835(97)00376-5.

Pedro Manuel Medina Venegas, alumno de primer curso del Grado en Biotecnología.



ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO, ESENCIAL PARA NUESTRAS VIDAS

María Jesús Sánchez Guisado

Resumen— El ácido docosahexaenoico (DHA) es un ácido graso que se puede encontrar en pescados azules. Es esencial para gozar buena salud por múltiples razones: aumenta la agudeza visual, la concentración, reduce el riesgo de padecer un infarto de miocardio, es anticancerígeno y antiinflamatorio.

Palabras Claves— DHA, ácido graso, cerebro, vista, cancer, corazón y antiinflamatorio.

El ácido docosahexaenoico (DHA) es un ácido graso esencial del tipo omega-3 (Fig.1). Se puede encontrar de manera natural en los pescados azules como el atún, el salmón o las sardinas, así como en el marisco y otros alimentos marinos como las algas. También puede originarse de otro ácido graso esencial, el alfa-linolénico, pero en muy poca proporción (5%), que se encuentra en los aceites de semillas (soya, maíz, girasol), frutos secos, germen de cereales y, en menor medida, en los vegetales verdes.

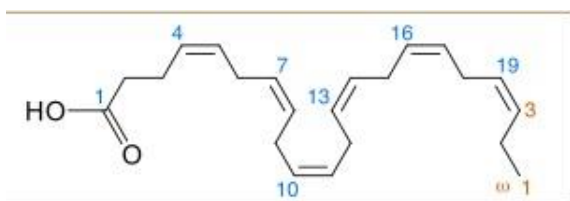


Fig.1. Fórmula del ácido docosahexaenoico (DHA)

El sistema nervioso central tiene la segunda mayor concentración de lípidos después de tejido adiposo. Ácidos grasos de cadena larga, en particular los ácidos araquidónico y docosahexaenoico, son los componentes integrales de los fosfolípidos de las membranas neuronales. Las alteraciones en dichos componentes no sólo pueden influir en la señalización intracelular e intercelular, sino también alterar muchas propiedades de la membrana como la fluidez, la fase de transición de temperatura, el espesor de la bicapa y los dominios laterales. Una deficiencia de ácido docosahexaenoico afecta notablemente a la neurotransmisión, la enzima unida a la membrana y las actividades del canal de iones, la expresión génica, la intensidad de la inflamación, la inmunidad y la plasticidad sináptica. Esto se asocia con el envejecimiento normal, la enfermedad de Alzheimer, hiperactividad, esquizofrenia, y trastornos peroxisomales y de aprendizaje. Aunque el mecanismo molecular de la participación de ácido docosahexaenoico sigue siendo desconocida, la suplementación de dicho ácido en la dieta restaura la expresión génica y modula la neurotransmisión como comprueba un estudio del 2010, llevado a cabo en 19 puntos clínicos de EE.UU. sobre 485 sujetos de más 55 años, que cumplían los criterios necesarios para asociar

sus problemas de memoria con la edad (es decir, que estaban sanos). Se encontró que el DHA, tomado durante seis meses, mejoró ligeramente la memoria a corto plazo y el aprendizaje en los adultos sanos y ancianos que tenían problemas de memoria suaves. El estudio, pues, demuestra que el DHA conlleva un beneficio estadísticamente significativo en las funciones cognitivas de individuos de dicha edad.

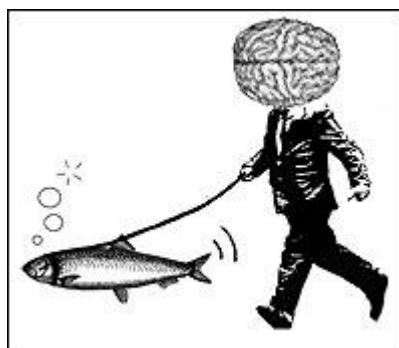


Fig.2. Imagen tomada de un artículo del periódico el Mundo que trata sobre el DHA

<http://www.elmundo.es/salud/2004/584/1094248805.html>

El tejido visual es una estructura derivada del sistema nervioso y que, al igual que el cerebro, tiene una extraordinaria capacidad para captar DHA desde el plasma. En la retina el DHA forma parte de los fotorreceptores de los conos y bastoncillos. Estas estructuras de la membrana, asociadas a la rodopsina, participan en la conversión del estímulo luminoso en un estímulo eléctrico (despolarización de membranas) y en los procesos de transducción de señales que acompañan a este fenómeno.

Las bondades de los ácidos grasos de la familia omega-3 no se quedan en la protección neuronal y ni en el tejido visual, sino que también el corazón se beneficia. La causa principal de muerte en los países occidentales es la enfermedad cardiovascular. Los estudios epidemiológicos han demostrado una fuerte relación entre el consumo de pescado y la reducción en la muerte por infarto de miocardio. La reducción es de

aproximadamente del 50% con 200 mg al día de DHA a partir de pescado, ya que es el componente activo de estos. No sólo reduce los triglicéridos en la sangre y la disminución de la trombosis, sino que también evita arritmias cardíacas.

Los ácidos Omega-3 poseen efectos anti-inflamatorios, por lo que han demostrado ser eficaces en patologías inflamatorias como la artritis reumatoide, la psoriasis o la enfermedad de Crohn.

El DHA también parece tener un efecto protector contra el cáncer. La combinación de la quimioterapia y la administración de suplementos de omega-3 parece una estrategia eficaz para mejorar los resultados clínicos del tratamiento del cáncer. A pesar de las mejoras de los últimos años, una proporción significativa de los pacientes de cáncer mueren aún, principalmente a causa del desarrollo de las metástasis. En esta etapa, los tratamientos actuales todavía dependen en gran medida de la quimioterapia convencional para la mayoría de tipos de cáncer. La eficacia de la quimioterapia es dependiente de la dosis, que está limitada por la toxicidad a los tejidos no tumorales, como resultado de su pobre selectividad tumoral. Para mejorar la supervivencia y preservar la calidad de vida, el reto consiste en desarrollar métodos destinados a aumentar la toxicidad de la quimioterapia en el tejido del tumor sin afectar los tejidos no tumorales. Los lípidos de origen marino, ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA), tienen el potencial para sensibilizar diferencialmente los tejidos a la quimioterapia. Estos lípidos mejoran la citotoxicidad de quince medicamentos contra el cáncer (antimetabolitos, agentes alquilantes o intercalantes, estabilizadores de microtúbulos, inhibidores de la tirosina quinasa Abl y el trióxido de arsénico) en una variedad de líneas celulares de cáncer o tumores, que se utilizan como modelos de cáncer de mama, de próstata, de colon, pulmón, cuello uterino, ovario, neuroblastomas, leucemia o linfomas. Sin embargo, el DHA y EPA no sensibilizan los tejidos no tumorales a los fármacos contra el cáncer, lo que sugiere que el efecto de estos lípidos es selectivo del tumor. Pero todo esto está aún en estudio, de confirmarse sus efectos beneficiosos, las consecuencias podrían ser considerables, abriendo la perspectiva de la suplementación sistemática durante

el tratamiento del cáncer, un cambio significativo en la cura del cáncer.

El consumo de DHA es muy importante durante el embarazo, ya que beneficia tanto a la madre como al bebé, al extender la duración de la edad gestacional. Los niveles más altos de DHA en la leche materna fueron asociados con la capacidad del bebé de ajustarse fácilmente a los cambios en su entorno, desarrollo psicomotor y habilidades de atención mejoradas.

En resumen, el DHA aporta muchos beneficios para la salud como un aumento de la agudeza visual, participa en procesos antiinflamatorios, reduce la posibilidad de padecer enfermedades cardiovasculares y mejora las funciones cognitivas. Por lo que su presencia en nuestra dieta debe de ser esencial ya que nuestro organismo no puede sintetizarlo por sí solo.

REFERENCIAS

- [8] Hajjaji, N., Bougnoux, P. " Selective sensitization of tumors to chemotherapy by marine-derived lipids," *Cancer Treatment Reviews* vol.39, no 5, pp. 473-488, 5 agosto 2013.
- [9] Life's DHA <http://www.lifesdha.com.mx/>
- [10] ElMundo, <http://www.elmundo.es/salud/2004/584/1094248805.html>
- [11] Karin Yurko-Mauroa, Deanna McCarthy, Dror Romb, Edward B., "Beneficial effects of docosahexaenoico acid cognition in age-related cognitive decline", 3 May 2010
- [12] Horrocks LA, et al, "Docosahexaenoico acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function", vol.70, pp361-372, Abril 2004.
- [13] Wikipedia Ingles,
http://en.wikipedia.org/wiki/Docosahexaenoico_acid.
- [14] Karin Yurko-Mauroa, Deanna McCarthy, Dror Romb, Edward B. Nelsona, Alan S. Ryana, Andrew Blackwellc, Norman Salem Jr.a, Mary Stedman (03 mayo 2010). "Los efectos beneficiosos del ácido docosahexaenoico sobre la cognición en la edad- deterioro cognitivo relacionado".

María Jesús Sánchez Guisado
estudiante de 1º del grado de Biotecnología en la Universidad de Pablo de Olavide.



Nitrosaminas: carcinógenos de uso diario

Virginia Vilar García

Resumen—El objetivo de este artículo es tratar el controvertido uso de las nitrosaminas, presente en una gran cantidad de productos de consumo diario y que producen un efecto perjudicial en el organismo. En él se trata el proceso de formación de estos compuestos, sus fuentes de origen, formas de paliar sus efectos y la relación entre nitrosaminas, cáncer y tabaco.

Palabras Claves— Nitrosaminas, nitritos, aminas, cáncer, tabaquismo

1. INTRODUCCIÓN

Día a día estamos expuestos a una gran cantidad de agentes mutágenos y cancerígenos, ya sean naturales o inducidos por el hombre. También hay compuestos que *a priori* son inocuos, pero que al producirse reacciones químicas entre ellos, generan productos potencialmente peligrosos. Uno de ellos es el grupo de las nitrosaminas, compuestos con los que convivimos cotidianamente y que pueden tener graves consecuencias en nuestro organismo.

2. ¿QUÉ SON LAS NITROSAMINAS?

Las nitrosaminas (NA) son compuestos químicos que se forman por la reacción de una amina secundaria con nitritos en un medio muy ácido y/o a temperaturas moderadamente altas (figura 1). Bajo condiciones ácidas, los nitritos forman ácido nitroso, que se protona y se escinde en el catión nitrosonio y agua. Este catión reacciona con una amina formando las N-nitrosaminas

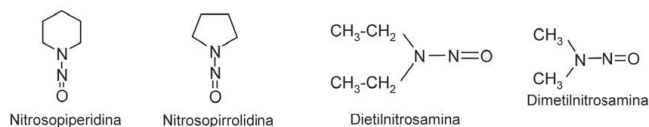


Figura. 1. Ejemplos de nitrosaminas

La propiedad química más importante de las NA es su capacidad mutagénica, pues pueden convertir sustancias electrófilas en agentes alquilantes, los cuales alteran la configuración de bases del ADN, provocan la muerte celular y mutaciones de diversos tipos, que pueden dar lugar a procesos de carcinogénesis. [9]

3. FUENTES DE NITROSAMINAS

Las fuentes potenciales para la formación de NA son numerosas y muy comunes en la vida cotidiana, lo que las hacen aún más peligrosas. Como las NA se forman a partir de una amina y nitritos, no es necesario que se encuentren como producto final: si se encuentran los dos reactivos que las forman, el metabolismo puede sintetizarlas de forma endógena:

1. Los nitritos se emplean en el procesamiento, cocción y preservación de una gran cantidad de alimentos, ya que poseen propiedades antimicrobianas [1]. Este tipo de conservante puede asociarse con aminas procedentes de alimentos (sobre todo con gran cantidad de proteínas) y formar nitrosaminas en el estómago (sitio ideal al tener medio ácido). Ejemplos de alimentos que son tratados con nitrito en algún momento de su procesamiento son el jamón cocido, pescados ahumados y diversos embutidos.

2. Distintos tipos de alcoholes, entre los que destaca la cerveza; se fermentan en barricas de acero inoxidable y aluminio, lo que sumado a los procesos térmicos a los que se someten estas bebidas provocan la formación de nitrosaminas exógenas [2].

3. El agua potable tampoco está exenta de la formación de nitrosaminas, pues se forman en las plantas de tratamiento de las aguas o pasan a través de los filtros. La nitrosamina que más suele formarse mediante estos procesos es la nitrosodimetilamina (NDMA, ver figura 1) [3].

4. El humo del tabaco contiene óxidos de nitrógeno que pueden reaccionar con agentes de la nicotina y formar NA específicas del tabaco, como la 4-(metilnitrosamina)1-(3-piridil)-1-butanona ó NNK y la nitrosornicotina (NNN), de las que hablaremos con más detalle a lo largo de este artículo.

5. También se pueden formar NA a partir de los cosméticos. En pocos de estos productos encontramos NA en su composición, pero se pueden formar a partir de la reacción de algunas aminas aromáticas como el bronopol o el bronidox (ambos conservantes) [4]. Aún así, mediante un estudio analítico realizado por Qiang y colaboradores, basado en la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas [5], se ha descubierto que hay alrededor de unas diez NA volátiles en los cosméticos (N-nitrosodimetilamina, N-nitrosodietilamina, N-nitrosomorfolina, N-nitrosopirrolidina, entre otras).

4. TIPOS DE CÁNCERES FORMADOS A PARTIR DE

NA

- **Cánceres en lengua y tracto respiratorio:** Provocado por las NA derivadas de la nicotina, de las que discutiremos más adelante.
- **Cáncer gástrico:** Producido por la reacción de formación de NA en el estómago, lo que hace que éstas puedan acumularse en este órgano y provocar mutaciones y tumores en dichas células.
- **Cáncer de vejiga:** Las NA y sus derivados viajan como metabolitos de excreción hacia la vejiga para su posterior expulsión por la orina. La acumulación de NA, al igual que en el estómago, puede provocar tumores en este órgano.

5. FORMAS DE CONTRARRESTRAR EL EFECTO DE LAS NA

El ácido ascórbico (AA) o vitamina C puede ayudar a disminuir la formación de NA, ya que previene el proceso de nitrosación. Esta reacción se hace por competencia con las aminas secundarias, pues éstas tratan de reaccionar con el nitrito y el AA trata de acidificarlo, de forma que lo reduce a óxido nítrico y él se oxida a ácido dehidroascórbico. De esta forma, el nitrito no podría reaccionar con las aminas y no se formarían NA, por lo que se reduciría la cantidad de éstas en el organismo y se reduciría la probabilidad de que éstos interaccionen con el ADN y puedan provocar mutaciones o procesos de carcinogénesis. [6]

6. UN CASO ESPECIAL: LA SÍNTESIS DE NA EN EL TABACO.

Como se ha mencionado anteriormente, la reacción de NO_x con algunos agentes de la nicotina pueden formar NA muy peligrosas y potencialmente carcinogénicas en la lengua, las cavidades nasales, el esófago, el páncreas y el hígado. Éstas son NNK (mostrada en la figura 2) y la NNN que se incluyen en el grupo de las nitrosaminas derivadas de la nicotina (TSNA).

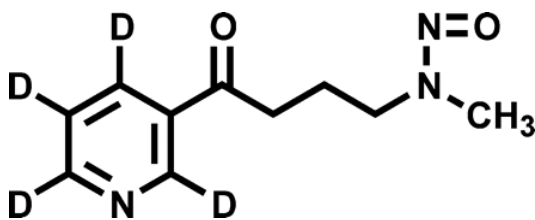


Figura 2. Estructura química de la NNK

En un fumador, la formación de nitrosaminas volátiles como la NDMA o la N-nitrosopirrolidina es menor que la formación de las TSNA, lo que hace que aumente el riesgo de sufrir enfermedades relacionadas con las nitrosaminas.

Las NNK y NNN inducen tres tipos de daños del ADN: metilaciones de nucleótidos, piridil-oxo-butilaciones (POB) y formación de aductos en el ADN.

Varias enzimas del citocromo P450 están expresadas en el tracto respiratorio e implicadas en el metabolismo de NNK y NNN (figura 3). Datos experimentales indican que el humo de los cigarrillos induce el metabolismo de las TSNA, lo que provocaría un incremento de la desalquilación de la N-7-guanina y la formación de aductos que podrían originar cánceres en los sitios donde

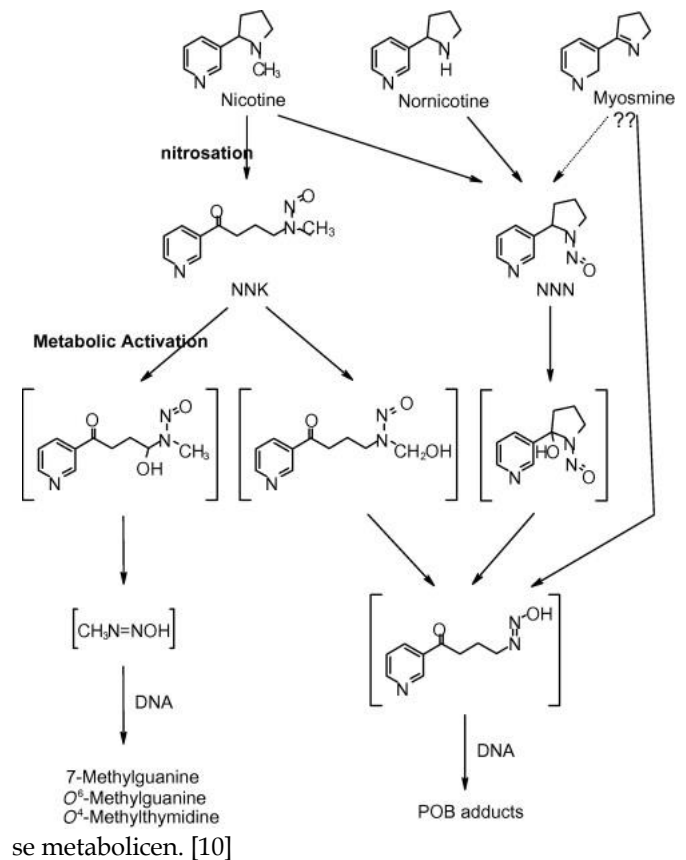


Figura 3. Ruta metabólica del NNK y el NNN

En varios estudios realizados en fumadores y no fumadores por Stepanov y colaboradores [7] se ha cuantificado la cantidad de metabolitos resultados de las reacciones metabólicas que se llevan a cabo a partir de TSNA. Como era de esperar, la cantidad de los biomarcadores estudiados era muy alta en fumadores. También se pudo concluir que la α -hidroxilación es la principal ruta del metabolismo del NNK en fumadores, lo que podría dar lugar a otros compuestos que interaccionen con el ADN y provoquen los daños mencionados con anterioridad.

Otro estudio centrado únicamente en el NNK demuestra que exponerse constantemente a este tipo de NA es perjudicial [8], ya que provoca cáncer de lengua en la

mayoría de los casos: ratones tratados con una dosis de 6 mg/kg durante 20 semanas fueron inducidos a una incidencia muy significativa de tumores de lengua. Si este NNK se proporciona durante 105 semanas a través del agua a una concentración de 1ppm también provoca una gran incidencia, mientras que si esta concentración es de 5ppm se induce tumor de lengua en más del 85% de los ratones. Por lo tanto, un fumador habitual está expuesto a tener 0,5 mg/kg de su peso en NNK en 30 años con este hábito; una cantidad que aparentemente es pequeña pero bastante perjudicial.

7. CONCLUSIONES

Las NA son compuestos bastante peligrosos presentes en muchos productos de uso diario. Para evitar la exposición excesiva a las NA es necesario seguir una serie de pautas que a la vez se ajustan a las recomendaciones para llevar una dieta saludable: moderar la ingesta de alcohol, no fumar, evitar la exposición al humo del tabaco y reducir la cantidad de productos ahumados o carnes tratadas con nitritos en nuestra dieta. Además, también es recomendable consumir alimentos ricos en ácido ascórbico (vitamina C), pues como hemos visto ayuda a disminuir la cantidad de nitrosaminas presentes en el organismo. Seguir estas recomendaciones no nos protegerá totalmente de ingerir nitrosaminas o que éstas se formen de forma endógena, aunque se puede reducir el riesgo de padecer cáncer de algún tipo respiratorio o digestivo.

REFERENCIAS

- [1] Web de Salud Vida. <http://www.sld.cu/saludvida/nutricion/temas.php?idv=7688> (Enlace Web)
- [2] Web de Eroski Consumer. <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/2002/08/19/3006.php> (Enlace Web)
- [3] Web de TrojanUV. <http://trojanuv.com/es/aplicaciones/tratamiento-decontaminaci%C3%B3n-medioambiental/reutilizaci%C3%B3n-indirecta-de-agua-potable> (Enlace Web)
- [4] Web de Natural Sensia. <http://www.naturalsensia.es/2012/09/nitrosaminas-y-cosmetica/> (Enlace Web)
- [5] Ma. Qiang, Xi. HaiW, Wang Ch, Bai H, Xi G, Su N, Xu L.Y, Wang J, "Determination of ten volatile nitrosamines in costemics by gas chromatography tandem mass spectrometry", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 39, no 8, pp. 1201-1207, Aug 2011
- [6] Paula Jakszyn, "Nitrosaminas y riesgo de cancer gastric", Instituto Catalán de Oncología, Universidad Pompeu Fabra, 2006.
- [7] Stepanov.I, Upadhyaya.P, Carmella.S.G, Feuer.R, Jensen.J, Hatsukami.D.K, Hecht.S.S, "Extensive metabolic activation of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in smokers", *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, vol.17, no. 7, pp.1764-1773, Jul 2008.
- [8] Le Marchand.L, Derby.K.S, Murphy.S.E, Hecht.S.S, Hatsukami.D, Carmella.S.G, Tiirikainen.M, Wang.H, "Smokers with the CHRNA lung cancer-associated variants are exposed to higher levels of nicotine equivalents and a carcinogenic tobacco-specific nitrosamine", *Cancer Research*, vol.68, no.22, pp 9137-9140, Nov 2008.
- [9] Web de Buenas Tareas <http://www.buenastareas.com/ensayos/Nitrosaminas/3374419.html> (Enlace Web)
- [10] Nilsson, R. "The molecular basis for induction of human cancer by tobacco specific nitrosamines", *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol 60, no.2, pp 268-280, Jul 2011.

Virginia Vilar García es de primer curso del Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Medalla de bronce en la Olimpiada Internacional de Ciencias de la Tierra Argentina 2012.



EL SAFROL Y SUS EFECTOS

JUAN PABLO RODRÍGUEZ RUIZ

Resumen—El safrol ha sido considerado desde hace mucho un carcinógeno tras haberse demostrado la aparición de tumores hepáticos en roedores. Actualmente, el safrol ha demostrado tener otros efectos.

Palabras Claves—Aductos, cáncer, células tumorales, nuez de betel, safrol.

1. INTRODUCCIÓN

El safrol, también conocido como 5-alil-1,3-benzodioxol (fig. 1), es un compuesto líquido transparente o amarillo claro, que se extrae del aceite de sasafrás (en el cual hay un 70-80% de safrol) contenido en la raíz del árbol de sasafrás. Este compuesto se utilizaba como antiséptico y como saborizante en alimentos, hasta que se descubrió su potencial cancerígeno. Además, se encuentra en pequeñas cantidades en plantas en las que actúa como pesticida natural.

A partir del safrol se puede obtener MDMA o éxtasis por isomerización, oxidación y aminación reductiva con metilamina, por lo que el árbol de sasafrás es cultivado ilegalmente en muchos países.

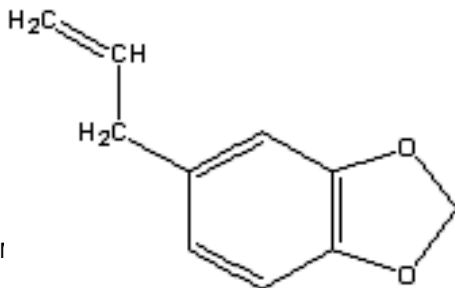


Fig. 1 |

El safrol puede sufrir varios tipos de transformaciones metabólicas [1]:

1. Hidroxilación alílica a 1'-hidroxisafrol e isomerización a 3'-hidroxisafrol.
2. Oxidación y escisión de la parte dioximetileno, lo cual lleva a 4-alilcatecol, que se oxida fácilmente a 4-alil-o-quinona.
3. Epoxidación de la cadena lateral alílica o del anillo aromático.
4. Gamma oxidación de la cadena lateral alílica, produciéndose ácido piperonílico, el cual se une a glicina, dando lugar a la piperonglicina.

Predominan las modificaciones 1 y 2, siendo por tanto el hidroxisafrol y el catecol los metabolitos principales del safrol, los cuales son capaces de reaccionar con macromoléculas.

2. EFECTO CANCERÍGENO

El safrol puede causar intercambios en las cromátidas hermanas y formación de aductos en el ADN. Además, el hidroxisafrol es mutagénico.

El hidroxisafrol es sulfonado a un éster de ácido sulfúrico inestable, el cual forma aductos ADN-safrol, los cuales se encuentran muy presentes en tumores hepáticos de consumidores ávidos de nuez de betel [2]. Este producto, que contiene 15 mg de safrol por g, es ampliamente consumido en el sureste asiático, y puede provocar la aparición de tumores orales, los cuales son la cuarta causa de muerte más común en países de esta zona como Taiwán [3],[4].

Los aductos han sido relacionados con el cáncer, ya que, en el examen de tumores, las células presentaban cantidades significativas de estos. Por tanto, éstos pueden ser la causa de la aparición de tumores, en cuyo caso quedaría demostrado que el safrol es cancerígeno.

A pesar de que en humanos no hay evidencias de que el safrol sea cancerígeno, sí que se conoce que el safrol causa cáncer en animales como ratas. Es por eso que el safrol se clasifica como 1B, es decir, su potencial carcinógeno está probado en animales, lo cual lleva a pensar en la inducción de cáncer en humanos aún sin haber pruebas concluyentes.

3. POTENCIAL ANTITUMORAL

La otra cara de la moneda es que el safrol puede tener actuar como agente antitumoral, ya que es capaz de inducir la apoptosis de células HSC-3 de tumores orales [3] y de células SCC-4 de tumores en la lengua [4].

Para promover la apoptosis, el safrol puede seguir dos vías (fig. 2):

1. El safrol es capaz de estimular la expresión del receptor Fas, el cual induce la activación de la procaspasa 8, con la consecuente activación de las caspasas 8 y 3, que inducen la muerte celular.
2. El safrol promueve la liberación del calcio citosólico, lo cual causa el colapso del potencial de membrana mitocondrial. Esto ocasiona la

sobreexpresión de proteínas proapoptóticas como la Bax y la Bid y el descenso de proteínas antiapoptóticas como la Bcl-2, lo cual produce la liberación del citocromo c de la membrana mitocondrial y la activación de la caspasa 9. Todo ello conduce a la activación de la caspasa 3, la cual inducirá a la apoptosis.

La inducción de la apoptosis en las células tumorales se ha demostrado en experimentos con ratones, observándose una reducción de los tumores orales, lo cual demuestra el potencial quimioterapéutico del safrol.

caspase activation cascade apoptotic signaling pathways.”
Environ Toxicol. 2012 Jul;27(7):433-44. doi: 10.1002/tox.20658.



Juan Pablo Rodríguez Ruiz. Estudiante de primer curso del grado de Biotecnología.

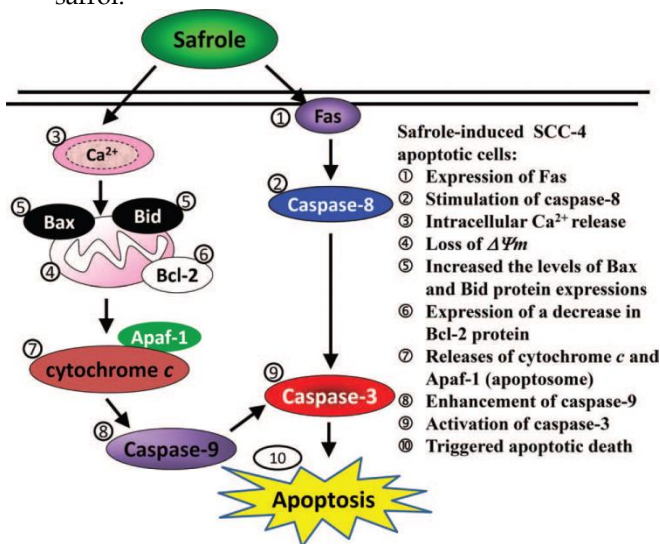


Fig. 2 Vías de inducción de la apoptosis por el safrol.

4. CONCLUSIONES

El safrol ha demostrado tener tanto potencial cancerígeno como anticancerígeno en diversos experimentos. El consumo de safrol no es recomendable, pero parece ser que podría usarse para combatir tumores orales.

REFERENCIAS

[1] Opinion of the Scientific Committee on Food on the safety of the presence of safrole (1-allyl-3,4- methylene dioxy benzene) in flavourings and other food ingredients with flavouring properties.

[2] Liu CJ, Chen CL, Chang KW, Chu CH, Liu TY. “Safrole in betel quid may be a risk factor for hepatocellular carcinoma: case report.” *CMAJ.* 2000 Feb 8;162(3):359-60.

[3] Yu FS, Yang JS, Yu CS, Lu CC, Chiang JH, Lin CW, Chung JG. “Safrole induces apoptosis in human oral cancer HSC-3 cells.” *J Dent Res.* 2011 Feb;90(2):168-74. doi: 10.1177/0022034510384619.

[4] Yu FS, Huang AC, Yang JS, Yu CS, Lu CC, Chiang JH, Chiu CF, Chung JG. “Safrole induces cell death in human tongue squamous cancer SCC-4 cells through mitochondria-dependent

Etileno y maduración de frutos

Laura Martínez Vidal

Resumen— El etileno es una molécula de pequeño tamaño y carente de grupos funcionales que posee, no obstante un enorme interés para las plantas. En este artículo descubriremos por qué.

Palabras Claves— etileno, maduración.

1. INTRODUCCIÓN

En 1886 un joven Dimitry Nikolayevich Neljubow de 17 años observó que unas plantas de guisantes crecían de manera horizontal en el laboratorio, mientras que fuera de éste lo hacían de forma vertical. ¿A qué se debía este suceso? ¿Qué diferenciaba ambos ambientes? La respuesta la dio él mismo, el etileno. Demostró que este componente gaseoso utilizado en la iluminación inducía este crecimiento anormal.

El etileno, debido a sus enormes efectos en el crecimiento y desarrollo vegetal ha sido foco de estudio para biólogos vegetales desde hace más de un centenario, incluyendo filósofos y pensadores griegos. En la década de 1930 se defendió que el etileno era un regulador del crecimiento de las plantas tanto endógeno como exógeno, hipótesis que, a pesar de ser recibida con cierto expectionismo, se confirmó cuando se produjeron una serie de avances técnicos en los métodos de estudio.

Además de actuar como fitohormona, el etileno tiene multitud de usos, pues se utiliza como materia prima en la industria petrolera, siendo el producto de partida para diversos compuestos y químicos. [1]

Se trata del hidrocarburo insaturado más sencillo, compuesto de dos carbonos unidos por un doble enlace, por lo que la rotación de la molécula no es libre; y 4 átomos de hidrógeno. Estos átomos constituyentes del etileno se disponen en un mismo plano.

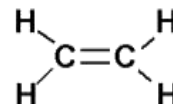


Fig. 2. Representación de una molécula de eteno o etileno.

Las propiedades químicas de este gas incoloro son fundamentales en su función biológica: su coeficiente de difusión en aire es del orden de unas 10.000 veces más que el coeficiente en agua. De manera similar ocurre con su solubilidad, siendo ésta 14 veces mayor en lípidos que en agua. El etileno, también conocido como eteno, puede unirse a una serie de metales los cuales actúan como cofactores, de gran importancia en la interacción etileno-receptor. Estos ions son el cobre y la plata. [2]

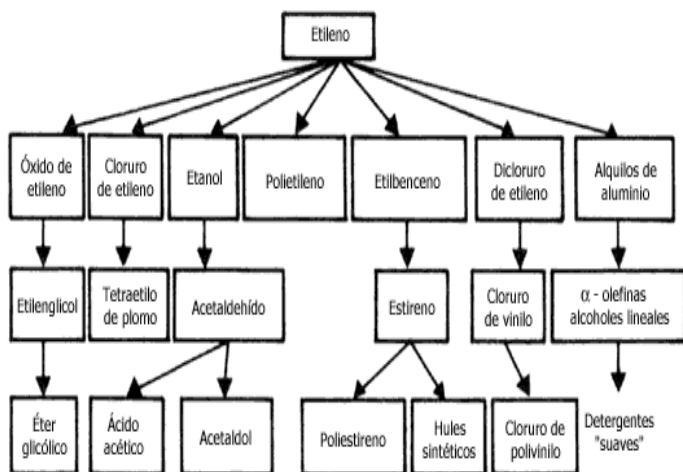


Fig. 1. Principales productos petroquímicos obtenidos a partir del etileno.

2. BIOSÍNTESIS DEL ETILENO

La biosíntesis de esta hormona vegetal se da prácticamente en todos los órganos de las plantas superiores, siendo su tasa de producción dependiente del tipo de tejido y estadio de desarrollo.

En 1979 S.F. Yang descubrió el ciclo de la metionina o de Yang, intermediario imprescindible en la biosíntesis del etileno. [2]

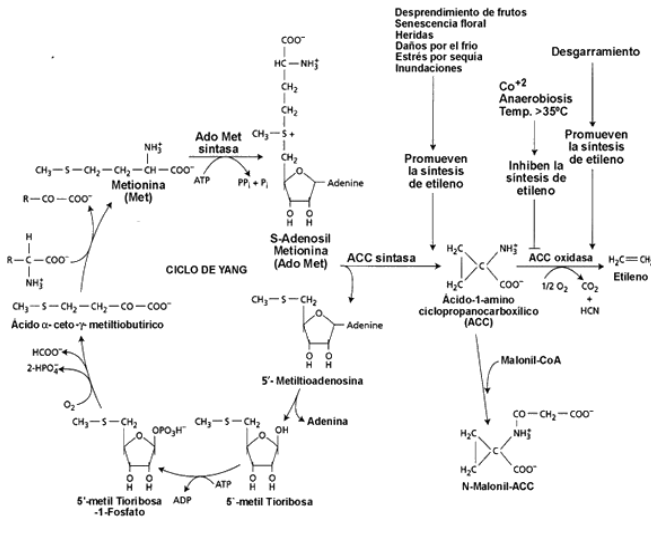


Fig. 3. Ciclo de Yang.

El proceso de síntesis comienza a partir del aminoácido azufrado **metionina**, que al asociarse con la adenosina genera **Ado-Met** (adenosilmetionina) gracias a una **Ado-Met-sintetasa** (SAM sintetasa). Dicha sintetasa es el principal donador de grupos metilo en plantas y realiza funciones en procesos como la biosíntesis del etileno o de la poliamina. Sin embargo, los niveles de S-Adomet no limitan la producción de etileno.

Posteriormente, la **ACC-sintetasa** actúa y convierte el Ado-Met en ácido-1-aminociclopropanocarboxílico (**ACC**). Como consecuencia de la producción de ACC se produce **5-metil-tio-adenosina** (MTA, la cual se disociará en adenina y metil-tio-ribosa), que es seguidamente reciclada a metionina, reacción fundamental en el ciclo de Yang ya que la metionina es fuente básica de azufre. [3]

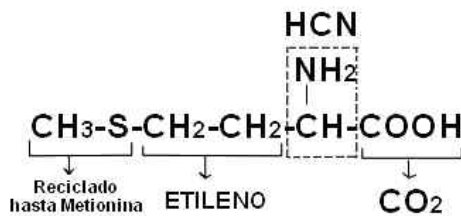


Fig. 4. Destino de los átomos de Metionina.

Finalmente el ACC es oxidado por la ACC oxidasa (**ACO**) en una reacción aeróbica dando lugar a **etileno**, **CO₂** y **cianida**, la cual es detoxificada a β-cianida para prevenir la toxicidad que genera su acumulación durante los periodos en que la biosíntesis del etileno es alta.

La obtención industrial de etileno se lleva a cabo mediante una reacción altamente endotérmica para que se produzca la rotura de enlaces: la deshidrogenación del etano.

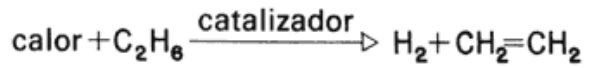


Fig. 5. Obtención industrial del etileno.

3. MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción del etileno reside en la presencia de un conjunto de receptores de membrana de naturaleza proteica en el retículo endoplasmático. Destaca ETR1, receptor que presenta un dominio transmembrana de unión al etileno, el cual se dimeriza al interactuar con un ión cúprico y una proteína RAN citosólica con la que forma puentes disulfuro. Dicha dimerización inicia una cascada de señalización por transferencia de grupos fosfato. [2], [4], [5].

En esta transmisión de señales juega un papel importante la quinasa citosólica CTR1, pues actúa como represor de EIN2, una proteína transmembrana. Cuando CTR1 interactúa con ETR1, se inactiva EIN2 y por lo tanto, los factores de transcripción que ésta regula (EIN3 y EIL1). Por lo tanto el estado de EIN2 es fundamental para la expresión de los genes que responden a la presencia de etileno, pues cuando el etileno llega al primer receptor descrito, ETR1, se anula la interacción de éste con la quinasa CTR1 generando así el estado activo de la proteína EIN2 que podrá regular la expresión de determinados genes al implicar la activación de sus factores de transcripción EIN3 y EIL1.

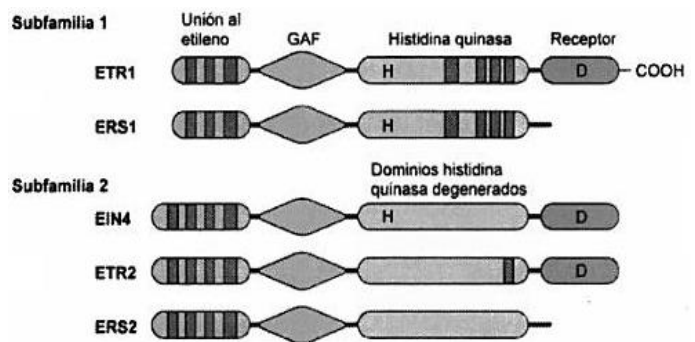


Fig. 6. Esquema de los cinco receptores proteicos del etileno y sus dominios funcionales.

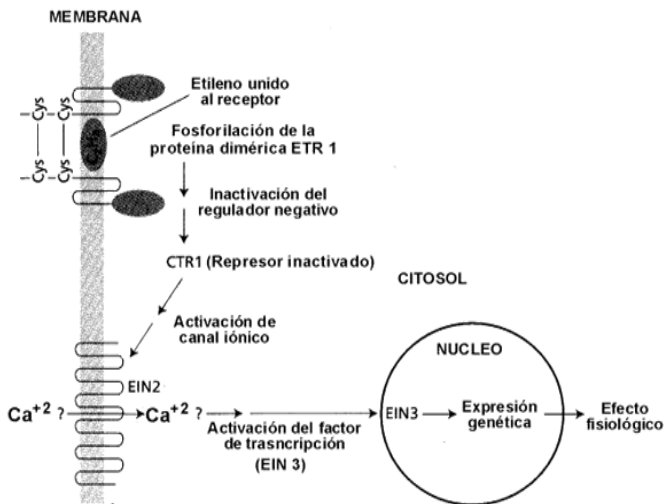


Fig. 7. Mecanismo de acción del etileno.

4. EFECTOS FISIOLÓGICOS

“Una manzana mala echa a perder al resto”. ¿Por qué? El etileno es una de las hormonas que promueven la maduración y senescencia permitiendo la adaptación al medio, con la particularidad de tratarse de un compuesto gaseoso a presión atmosférica. Esta característica, le permite difundir en forma de su precursor ACC y actuar de manera rápida, sin requerir procesos de degradación.

El principal efecto del etileno en plantas es el fenómeno conocido como “triple respuesta”, responsable del crecimiento en horizontal en vez de en vertical (fenómeno observado por D. N. Neljubow) pues reduce la elongación del



Fig. 8. Manzanas.

hipocótilo, incrementa el desarrollo lateral y genera consiguientemente una curvatura del gancho apical, produciéndose así un cambio en la orientación del desarrollo. La presencia de etileno conlleva una **expansión celular** en la que la expansión lateral se debe al alineamiento de microtúbulos, que determina la deposición de microfibrillas de celulosa posteriores. [2], [4].

Es promotor de la **maduración de frutos**, pues aumenta los niveles de enzimas hidrolíticas y regula las respuestas a estrés: induce epinastia y abscisión. La **epinastia** es el fenómeno por el cual el crecimiento vertical de ramas y brotes se ve sustituido por uno más horizontal debido a un crecimiento desigual de los laterales de la hoja. Este efecto es apreciable en condiciones anaeróbicas o en suelos excesivamente húmedos o encharcados. La **abscisión** de frutos y hojas aumenta la producción de enzimas digestivas de la pared celular, regulando así la actividad de las auxinas (hormonas vegetales). [4], [5].

El etileno favorece la **floración** en especies como la piña; y la **germinación** de las semillas. Inhibe el crecimiento radical, interrumpe el estado de dormición de semillas y yemas e inhibe el crecimiento radical. [6]

Dicho alqueno sencillo aumenta la velocidad de la **senescencia** de la hoja, proceso por el cual la planta envejece. Características claras de senescencia vegetal son la pérdida de clorofila y decoloraciones, causados por un aumento en la producción de etileno, la cual regulará un balance hormonal de citoquininas. [7]

5. CONCLUSIONES

El conocimiento sobre los efectos de hormonas como el etileno en la maduración de frutos nos permite obtener **transgénicos** biotecnológicamente mediante diferentes técnicas: por ejemplo, la sobreexpresión de un gen que desamina ACC implica una reducción de los niveles de etileno, pues el precursor de éste sería catalizado a ácido α -ketobutírico y amoníaco. De manera similar, inhibiendo la ACC oxidasa o la ACC sintasa se inhibiría la biosíntesis de etileno, obteniendo así alimentos modificados resistentes al etileno y, por tanto, con una menor tasa de maduración. La obtención de dichos alimentos permitirá el consumo de diversos frutos exóticos exportados a países diferentes del que proceden y en un periodo de tiempo más amplio durante el cual conservarán sus diversas propiedades facilitando de esta manera su comercialización.

REFERENCIAS

- [11] http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/072/htm/sec_6.htm
- [12] P. Hedden, Stephen G. Thomas, *Plant Hormone Signaling*. Blackwell Publishing, pp. 125-145
- [13] Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, Russell L. Jones, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, pp. 895-901
- [14] <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Etileno,aba,jasmonico,brasino.pdf>

MOLEQLA PATRIMONIO



Estudio diagnóstico del estado de conservación de las campanas históricas de la Iglesia de San José (Puerto Real, Cádiz)

Antonio J. Sánchez Fernández

Resumen—El diagnóstico del estado de conservación de las campanas históricas requiere una metodología de trabajo para el conocimiento de los objetos histórico-artísticos. De esta forma, exponemos los factores de alteración y los mecanismos y productos de corrosión que afectan a dichos bienes.

Palabras Claves— Conservación-Restauración, Diagnóstico, Metales, Corrosión.



1 INTRODUCCIÓN

El presente texto trata de estructurar la metodología de estudio para el diagnóstico del estado de conservación de las campanas históricas de la Iglesia de San José de Puerto Real, Cádiz. El estudio del caso práctico cuenta con un apartado meramente teórico que establece el programa de estudios científicos previos a la actuación.

La composición mixta de materiales que constituye la estructura y su historia material son un reflejo de la complejidad de factores que afectan a estos bienes.

2 CONTEXTO HISTÓRICO-ARTÍSTICO

La antigua Iglesia de Jesús, María y José, hoy Centro Cultural “Iglesia de San José”, se ubica en el centro histórico de Puerto Real. Es un edificio religioso de corte neoclasicista (1740/1794), proyectado por Torcuato Cayón de la Vega, y fue continuada por Torcuato Díaz de Benjumea. El templo tiene una planta de salón, de tres naves con cúpula. La nave central se cubre con bóveda de cañón.

Las naves laterales son de bóvedas de arista. En el crucero se eleva una media naranja que está rematada por una linterna octogonal.

El exterior del templo está realizado en piedra ostionera enfoscada y encalada. La decoración se organiza a partir de un cuerpo de doble altura ornamentado por cuatro pilastras toscanas sobre las que corre una doble cornisa.

La torre tiene dos cuerpos rematados por cornisas y cubiertos por un chapitel bulboso.

Está inscrito como Bien de Interés Cultural (BIC) en la categoría jurídica de Monumento [1].

Se conservan las dos campanas pero no *in situ*, sino expuestas dentro del Centro. Una de ellas porta inscripción que testimonia fecha y pertenencia. La otra es probablemente una reutilización, pues es del s. XX.

3 ANÁLISIS DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN

3.1. Previsión de estudios científico-analíticos

Para el conocimiento profundo de las campanas, se precisa una serie de estudios previos que contribuirán a determinar los datos para un adecuado análisis.

Los métodos de examen físico facilitarán aspectos respecto a: las técnicas de elaboración de las obras, el estado de conservación o las capas de corrosión. Se recurrirá a los siguientes procedimientos:

- Estudios gammagráficos.
- Estudios de la densidad y porosidad.
- Documentación macro y microfotográfica.

Los estudios analíticos caracterizarán los elementos y compuestos constituyentes, la técnica de elaboración, las distintas capas de corrosión formadas en superficie y su estado de conservación. Se dispondrán de las siguientes técnicas:

- Análisis químico sustancias inorgánicas (Espectrometría infrarroja FTIR).
 - Determinación de las sales solubles.
 - Análisis de concreciones y capas de corrosión (por fluorescencia de rayos X).
 - Estudio metalográfico (conocimiento de los elementos y compuestos constituyentes).
- Microscopía electrónica de barrido SEM y EDAX.



Fig. 1 y 2. Campanas de la Iglesia San José. Izquierda, pieza original. Derecha, obra del s. XX.



Fig. 3. Detalle de la decoración zoomórfica de la corona o asa. Se observan distintas capas de corrosión y cloruros activos.

- FT-IR. Espectometría de Infrarrojo por Transformada de Fourier.
- Difracción de rayos X DRX (análisis mineralógico-cristalográfico).
- e. Fluorescencia RX dispersiva y no dispersiva. (Caracterización química cualitativa y cuantitativa).
- f. Estudio mediambiental (microclimático y lumínico).

3.2. Datos técnicos

Se conservan los yugos de madera (*Quercus sp.*), los tirantes de hierro y las copas de bronce. Probablemente, una aleación de cobre que tradicionalmente contenía un 20% aproximadamente de estaño [2].

La primitiva (Fig. 1), mide 45,5 cm de diámetro en el hombro, 75,5 cm el pie y 80,3 cm de altura. Tiene dos inscripciones: en el tercio, "AÑO DE 1773"; en el medio, "ES DE LA YGLERIA DE SEÑOR SAN JOSH DE LA VIYA DE PUERTO R(EAL)". Existen también dos relieves: una cruz y la figura de San José. La corona es zoomórfica.

La segunda campana (Fig. 2) mide 38,5 cm de diámetro en el hombro, 72,5 cm el pie y 82,5 cm de altura. Tiene varias inscripciones en el medio: "959-B"; "MOISES DIEZ PALENCIA AÑO 1911"; "SANTIAGO APÓSTOL". Tiene relieves en forma de guirnalda y un crucificado. El hombro está decorado con motivos vegetales.

3.3. Estado de conservación

Las alteraciones que presentan las campanas son producto de un conjunto de agentes medioambientales.

Por otro lado, se considera pátina noble, por su estabilidad y uniformidad, tanto a los óxidos (cuprita y tenorita), como a los carbonatos (azurita y malaquita).

Así, se puede considerar pátina, no sólo a un recubri-

miento superficial, sino todo un conjunto de efectos del proceso de envejecimiento de los materiales [3].

Es fundamental distinguir entre aquellos compuestos que participan en los procesos cíclicos de corrosión (cloruros activos) y aquellos que no participan, bien por su localización en las capas superiores de los productos de corrosión, o bien por su naturaleza química. En definitiva, los cloruros activos están situados bajo las diferentes capas de corrosión cuyas características dependen del metal y de su propia estructura (espesor, porosidad, agrietamientos, etc.) [4].

Se detectó presencia de cloruros de forma local en las coronas de las campanas y en el tercio inferior de las mismas. Esta alteración se produce cuando se combina el cobre con el ion Cl^- , formando: cloruro cúprico, cloruros básicos de cobre, etc. Se detectan por su color verde pálido característico y aspecto pulverulento. Esto se debe a que proceden de ambientes costeros, ricos en estos iones.

Al estar en contacto con la superficie metálica del cobre, las soluciones de cloruros ocasionan procesos de co-



Fig. 3. Detalle de los relieves decorativos. Morfología de patologías en escorrentía.



Fig. 4. Detalle del cierre de los tirantes de hierro.

rosión electroquímica, que dan por resultado la formación de atacamita ($\text{CuCl}_2 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2$) y nantokita (CuCl). Tanto la atacamita como la nantokita (de color blanquecino y textura harinosa) son productos de corrosión activos, es decir, que continúan promoviendo procesos de corrosión. Los cloruros de cobre atraen la humedad del ambiente y reaccionan con el agua para formar óxidos de cobre (cuprita y tenorita) y HCl [5]. El ácido clorhídrico disuelve el metal sano que se encuentra debajo de las capas de productos de corrosión, para formar nuevamente cloruros de cobre. Éstos atraen la humedad, se disuelven, forman óxidos de cobre y ácido clorhídrico; y así el proceso de corrosión se hace cíclico, hasta la completa destrucción del metal.

Podemos observar también otro tipo de alteración en la superficie del metal: picaduras o cráteres. Son debidas a la acción atmósfera-metal, y a los depósitos que favorecen los procesos químicos que dan lugar al "efecto pila". La exposición al ambiente urbano las expone a las deyecciones de aves (compuestos del amoníaco y ácido úrico). Además, son higroscópicas por lo que alargan la presencia de humedad. Es lo que sucede en las zonas de cloruros en forma de escorrentía (Fig. 3).

El oxígeno ha atacado sin dificultad al hierro en presencia de la humedad, produciendo hidróxidos férricos y ferrosos (*orín*). Los iones Fe^{2+} perdidos por el metal en combinación con iones Cl^- presentes en el entorno dan como resultado cloruro de hierro (FeCl_2 - FeCl_3) o bien oxiclорuro de hierro (FeOCl) [6]. Estos procesos suelen dar comienzo en discontinuidades, huecos y grietas donde se alojan los cloruros y/o se forman pilas de aireación diferencial. En un ambiente rico en ClNa , el metal se comporta como un conjunto de células galvánicas. Las áreas anódicas se disuelven para formar FeCl_2 , mientras que las catódicas se hacen alcalinas por la formación de NaOH . Este es un proceso cíclico, de forma que la estabilidad queda condicionada por la eliminación total de los cloruros del objeto.

De esta manera, se observa una desintegración del material perdiendo su forma original (Fig. 4) y un característico aumento de volumen que ha fracturado la madera.

Además, existen zonas de contacto directo entre el hierro y el bronce (Fig. 2) que ha producido una corrosión galvánica al ser dos metales de diferente potencial electroquímico y haberse encontrado en un ambiente húmedo y salino que ha actuado como electrolito.

En los yugos se observan fendas, fracturas y la acción biológica de hongos, favorecida por la presencia de productos de corrosión, además de ataque xilófago.

4. CONCLUSIONES

El correcto diagnóstico de nuestras piezas sólo vendrá a partir del conocimiento profundo de las causas y consecuencias de los factores de alteración. Este conocimiento debe depender de la acción interdisciplinar entre las diferentes profesiones relacionadas con el patrimonio.

REFERENCIAS

- [1] Real Decreto 3012/1980, de 4 de diciembre, por el que se declara monumento histórico-artístico, de carácter nacional, la iglesia de San José, en Puerto Real (Cádiz). Publicado en el Boletín Oficial del Estado, núm. 23 de 27 de enero de 1981, p. 1918.
- [2] A. Alonso Barba, *Arte de los metales, en que se enseña el verdadero beneficio de los de oro, y plata por azogue. El modo de fundirlos todos, y como se han de refinar, y apartar unos de otros* (facsimil). Editorial MAXTOR, Valladolid, p. 62, 2003.
- [3] A. Escalera Ureña, "Problemas de superficie en metales arqueológicos". *Actas del I Congreso de Conservación de Bienes Culturales. Comité español del ICOM*, Sevilla, p.267, 1976.
- [4] R. Bertholon y C. Relier, "Los metales arqueológicos" (trad. José M^a Alonso) Capítulo V de M.C. Berducou (coordinad.), *La Conservation en archéologie*. Ed. Masson, Paris, p.210, 1990.
- [5] VV AA., "Outdoor bronze statues: analysis of metal and surface samples". *Studies in Conservation* n^o 41, p. 214, Abril, 1996.
- [6] C. Fernández Ibáñez, "La alteración del hierro por sales. Ayer y hoy. Problemas y soluciones", en VVAA, *La conservación del material arqueológico subacuático*, Santoña, p. 283, 1998.



Antonio J. Sánchez Fernández. Ldo. en Bellas Artes (especialidad en 'conservación-restauración de obras de arte') por la Universidad de Sevilla y posee el DEA por la misma. Ha realizado intervenciones en distintas tipologías de bienes culturales, muebles e inmuebles, con ejemplos tanto en ámbito arqueológico (*Acinipo*, Ronda) como en bienes artísticos (*Capilla del Carmen*, Cádiz). Ha participado en equipos profesionales para el estudio y documentación del *Teatro Romano* de Málaga, las pinturas murales de los *Baños de Dña. María de Padilla* (Real Alcázar de Sevilla) o en la intervención en de la iglesia del *Sto. Cristo de la Salud* (Málaga) para el IAPH, entre otras. Es además autor de diversos artículos en revistas especializadas y ha participado como ponente en congresos, siendo en la actualidad doctorando por la Universidad de Sevilla.

La Cruz de “El Porche” de Paradas (Sevilla)

Álvaro Vera Barrera

Resumen— Estudio del diagnóstico de la obra metálica de La Cruz de “El Porche” de la localidad sevillana de Paradas, analizando el estado y los problemas de corrosión que presenta la obra, además de aportar una propuesta de Conservación y Restauración para la obra.

Palabras Claves— Carbono 14, Datación, Radiocarbono.

1 INTRODUCCIÓN

El monumento de La Cruz de El Porche constituye una de las obras más simbólicas de la localidad de Paradas (Sevilla), a pesar de su corto periodo de años.



Fot. 1. Monumento general de la Cruz de El Porche [1].

Para el aporte de datos referentes a la Cruz de “El Porche” voy a citar la información que ofrece el autor de la localidad D. Ricardo Benjumea-Cansino en su libro titulado *Más “paraño” que El Porche*: “Aprovechando la ocasión en que se enlosó el ángulo delantero de nuestro templo parroquial que conocemos por El Porche, se instaló, este monumento, bajo la dirección del Párroco D. Julio Martínez Bernal, el día 3 de mayo de 1954 (año de la nevada), primer día de Feria de Paradas y festividad de la Invencción de la Santa Cruz. Conmemoración similar a la que se celebra el 14 de septiembre: la Exaltación de la Santa Cruz, recordando cuando Santa Elena encontró la Cruz de Cristo, allá por el siglo IV en Jerusalén. Constantino el Grande, hijo de dicha santa, por amor a su madre y en honor a Cristo, mandó construir grandes basílicas, por Jerusalén y por Roma, dedicadas a este magno acontecimiento.” [2]

“La Santa Cruz podemos decir que fue en Paradas el origen de nuestra feria local. Primero se colocaron en lugares muy estratégicos de la población. Cruces con pilastras y hornacinas, que aún –

salvo excepciones - podemos contemplar, aunque un poco abandonadas; fueron motivo para grandes fiestas con Vía Crucis que, al recorrer de los años, terminaron siendo nuestra feria local... La bendición e inauguración de la Cruz del Porche se celebró al anochecer, en olor de multitudes portando velas encendidas y coincidiendo con el primer día de nuestra feria.” [3]

La cruz de cerrajería fue obra de los herreros paradeños Vargas y Carmona, es de hierro forjado, compuesta de cuatro faroles en la base de la cruz central. La cruz está realizada en chapa de hierro perforada, y los elementos decorativos que conforman los cuatro faroles están retorcidos a mano empleándose la técnica que comúnmente se conoce como de hierro “tiraó”. La columna se realizó en la fábrica de Cemento de Morón de la Frontera (Sevilla).

2 ESTADO DE CONSERVACIÓN Y PATOLOGÍAS

2.1. Estado de Conservación

Tras el examen visual realizado a la obra se ha podido comprobar y cuantificar los daños que presenta.

Los principales indicadores del proceso de alteración que se aprecia en el examen visual realizado a la obra son los siguientes:

- Agentes de alteración **intrínsecos**: es decir, debido a la función que desempeña y en el lugar en que se encuentra la obra en cuestión, y sumado al material en el que está realizada la obra le hace más susceptible a que dichos agentes actúen y se aprecien dichos cambios o variaciones en el material constituyente de la obra.
- Agentes de alteración **extrínsecos**: debido a su situación en el exterior los agentes externos tales como la luz, el agua, la humedad y el aire son los responsables de los daños que presenta la obra.



Fot. 2. Detalle de uno de los faroles de la Cruz [4].

2.2. Patologías

Los daños más patentes que se pueden observar a simple vista (es decir, superficialmente) son la corrosión causada por la acción del agua y la del oxígeno en presencia de la humedad. La corrosión está localizada en toda la obra, aparecen con impurezas superficiales. Se puede observar también un aumento del volumen en las partes que componen la obra, además de picadoras y gránulos. El color de la corrosión es de dos tipos: rojo - naranja (que se puede relacionar con un tipo de hidróxido de hierro denominado *lepidocrocita*); y marrón - rojizo (se puede relacionar con un tipo de óxido de hierro llamado *akaganeíta*). Hay que apuntar la pérdida de tres cristales de dos de los faroles que conforman el conjunto metálico, deyecciones de aves. Y también el desgaste del recubrimiento del acabado final de la obra que en sus inicios era de color negro.

3 PROPUESTA DE INTERVENCIÓN

La Cruz de "El Porche" desde que la crearan Vargas y Carmona no ha sido intervenida, de ahí mi interés por hacer una propuesta urgente de Intervención en lo referente a su Conservación y Restauración. La propuesta que presento es la siguiente:

- Estudio de la composición del metal y sus características.
- Estudio del entorno microclimático y ambiental.
- Análisis de los productos de corrosión y evaluación de los daños.
- Técnicas para el estudio del metal y su estado de alteración:
 - Análisis químico y microquímico.
 - Microscopio de luz incidente.
 - Microscopio estereoscópico.
 - Microscopio metalográfico.
 - Microscopio electrónico de barrido (MEB).
 - Difracción de rayos x (DRX).
 - Microsondas.
 - Tratamiento de Conservación y Restauración:
 - Desmontaje de todos los cristales de los cuatro faroles.
 - Limpieza mecánico-manual, química y electroquímica de la parte metálica.
 - Protección final de la obra.
 - Restitución de los cristales perdidos. Y su posterior colocación.

4 CONCLUSIONES

El principal objetivo de este trabajo es poner de manifiesto el gran deterioro que presenta esta obra tan simbólica de la localidad de Paradas. Necesita de una intervención urgente para garantizar su conservación y preservación, ya que, con el paso del tiempo los problemas de corrosión se agravarán más, haciendo que los procesos y/o tratamientos que se les puedan aplicar no sean tan efectivos. Y por tanto hago un llamamiento al pueblo para que se conciencie del estado deteriorado en que se encuentra uno de los monumentos más significativos de su localidad, y el plantearle varias opciones para la conservación de la obra metálica. Dichas opciones son

las siguientes: actuar con un tratamiento de conservación y restauración que garantice la vuelta a su estado más original posible y retardar con dichos procesos los nuevos deterioros que puedan aparecer en un futuro; que haya un control de seguimiento del estado en el que se encuentra la obra periódicamente si llegara ésta a restaurarse; o incluso de realizar una réplica en un material más estable que el hierro. Existe una réplica, pero está realizada del mismo material que el original, de hierro, su autor es D. Antonio Vera González (empleado del Ayuntamiento de Paradas) en 1996.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- Benjumea - Cansino R, Más "paraño" que El Porche. Editorial MIC, 2010, pp. 204.
- Auxiliadora Gómez Morón, "Estudio analítico de la reja Mayor de la Capilla Real de Granada"
http://www.mcu.es/patrimonio/docs/MC/IPHE/BienesCulturales/N8/23-Estudio_analitico_reja_Mayo_Capilla_Real_Granada.pdf
Web de Pedroche (Córdoba).
http://www.pedrocheenlared.es/doc/_elyamur.pdf
- [1] Fotografía realizada por el autor del trabajo: Álvaro Vera Barrera. Fecha: 11/Mayo/2013.
- [2], [3] Benjumea - Cansino, R. Más "paraño" que El Porche. Editorial MIC, 2010, pp. 204
- [4] Fotografía realizada por el autor del trabajo: Álvaro Vera Barrera. Fecha: 11/Mayo/2013.



Álvaro Vera Barrera recibió el título de Licenciado en Bellas Artes en la especialidad de Conservación y Restauración de Obras de Arte por la Universidad de Sevilla en 2011.

Diagnóstico de la conservación y restauración del edificio metálico de Badajoz (antiguo mercado de abastos)

Manuel Alfaro Domínguez

Resumen— El Edificio Metálico (antiguo Mercado de Abastos de Badajoz) se ubica en el Campus de la Universidad de Extremadura en Badajoz (Avda. de Elvas, s/n). El propietario del mismo es igualmente la Universidad de Extremadura. Originalmente dicho mercado estuvo situado en la Plaza Alta de la capital provincial, donde se inauguró en 1899. Entre 1975 y 1977 el edificio se desmontó y recompuso en el campus de la Universidad de Extremadura en Badajoz, habiendo sido utilizado como sala de usos múltiples y sede de otras dependencias de la Universidad de Extremadura. En mayo de 2006 se firmó un convenio entre el entonces Ministerio de la Vivienda y la Universidad de Extremadura para la rehabilitación del edificio concediéndose 5,2 millones de euros para su reparación y mejora. Actualmente, debido a la crisis económica todavía está pendiente de ejecutarse el citado convenio y recientemente (el 27 de mayo de 2013) se ha hecho público que el Ministerio de Fomento no asumirá la rehabilitación. Por otra parte, por Decreto 251/2012, de 18 de diciembre, se declaró el Edificio Metálico de Badajoz (antiguo Mercado de Abastos) como Bien de Interés Cultural, con categoría de Monumento. La estructura metálica del Edificio Metálico de Badajoz, presenta corrosión medio ambiental que es necesario de conservar y/o restaurar de forma urgente.

Palabras Claves— Conservación, Restauración, Edificio, Metálico, Corrosión.



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivo del presente trabajo

El objetivo del presente trabajo es realizar una descripción aproximada del estado de conservación y mantenimiento del Edificio Metálico de Badajoz (antiguo Mercado de Abastos) en cuanto a la estructura metálica exclusivamente del Edificio y proponer su conservación y/o restauración para protegerla de la corrosión medio ambiental, pues el mismo presenta otras patologías de carácter estructural arquitectónico y de cimentación del terreno donde se ubica. Realizaré un diagnóstico de la corrosión metálica ambiental sufrida por la estructura metálica en las pilastras exteriores del Edificio y propondré la caracterización que habría que llevar a cabo, así como la posible conservación y/o restauración de la misma. En un futuro, realizaré los análisis de composición química pertinentes por diferentes técnicas, de la muestra que he obtenido de una de las pilastras que presenta corrosión electroquímica, para disponer de los resultados y posteriormente interpretarlos y discutirlos y llevar a cabo una propuesta de conservación y/o restauración.

1.2. Introducción histórica

El edificio es una muestra muy interesante —por lo escasa y por su valor intrínseco— de la arquitectura del hierro característica de finales del siglo XIX y comienzos del XX, en la Fotografía 1 se puede observar la construcción del Mercado de Abastos de Badajoz en la Plaza Alta de Badajoz antes de 1899, y en la Fotografía 2 se puede observar el Edificio Metálico en la Plaza Alta antes de su traslado al



Fot. 1. Construcción del Edificio Metálico



Fot. 2. Vista general del Edificio Metálico antes del traslado

campus Universitario de Badajoz de la Universidad de Extremadura en el año 1975, y en la Fotografía 3 se observa la Plaza Alta de Badajoz actualmente en mayo de 2013, por último en la Fotografía 4 se puede observar el Edificio Metálico actualmente en mayo de 2013 desde dicha cara norte. Así, son escasos los ejemplos conservados en Extremadura de este tipo de construcciones, en las que se dan la mano arquitectura e ingeniería. Por ello el gran valor patrimonial de este edificio le hace merecedor de ser propuesta su incoación para la declaración como Bien de Interés Cultural con la categoría de Monumento por la Junta de Extremadura en mayo de 2012 [1].



Fot. 3. Plaza Alta de Badajoz Actualmente

La Revolución Industrial promovió el uso de nuevos materiales de construcción, entre los que destaca el hierro, dando lugar a la llamada "arquitectura del hierro", que empezará a desarrollarse en Francia a partir de mediados del siglo XIX. Este tipo de arquitectura, caracterizada por el ensamblaje de piezas metálicas, sería adaptada a la construcción de tipologías edificatorias características del momento: fábricas, mercados, etc. Gracias particularmente a las Exposiciones Universales esta técnica constructiva se fue difundiendo por toda Europa y llegó a España, donde alcanzó un importante auge en el último tercio del siglo XIX y comienzos del XX.



Fot. 4. Vista general del Edificio Metálico en el campus (frente norte)

Extremadura no fue ajena a este fenómeno, siendo ejemplos importantes de esta arquitectura del hierro los conservados en Mérida (puente del ferrocarril sobre el río Gadiana, 1883; y mercado de abastos Jose María de Calatrava, 1887) o Coria (puente sobre el río Alagon, 1909). En la ciudad de Badajoz destacan el Kiosko de San Francisco (1894); y, naturalmente, el Edificio Metálico, antiguo mercado de abastos de la ciudad.

El edificio se encuentra actualmente en el acceso principal del Campus Universitario de Badajoz, exento en una amplia parcela ajardinada, con orientación norte-sur. Concebido como espacio diáfano de gran amplitud, tiene planta rectangular de dimensiones aproximadas de 60 x 23 m. y se compone de tres naves, la central más ancha y alta que las laterales, separadas por columnas de hierro fundido que en origen servían como soporte y límite a los distintos puestos del mercado. Sobre las columnas apoyan las cerchas atirantadas que forman la cubierta y las vigas de celosía longitudinales que unen las columnas y salvan la diferencia de altura entre las naves, como se observa en la Fotografía 5, una vista general del exterior del Edificio Metálico de perfil en su cara sur, actualmente en mayo de 2013.



Fot. 5. Vista general del Edificio Metálico (cara sur)

La cubierta, originalmente de acero galvanizado, es de dos aguas en la nave central y de cuatro aguas en las naves laterales. Tiene en su parte superior varios lucernarios para la entrada de luz y ventilación. Se aprovecha la diferencia de altura entre la nave central y las laterales para insertar sendos ventanales corridos, como se observa en la Fotografía 6, del interior del Edificio Metálico.

En el traslado a su actual ubicación, el basamento original se elevó creando un semisótano de estructura de hormigón para apoyo del edificio, recubierto exteriormente de granito y con huecos para iluminación, que hizo necesaria la construcción de dos escalinatas en los accesos. Además se cambió el material original de la cubierta. Con posterioridad también se colocarían carpinterías de aluminio blanco.

El cerramiento exterior está formado por un cuerpo bajo, de fábrica de ladrillo visto, modulado por pilastras y recercado superior e inferior de granito, y un cuerpo su-

perior de mayor altura de cerramiento metálico formado por una sucesión de pilastras y arcos de fundición, con vanos verticales de grandes dimensiones. Los ventanales se protegían del sol por lamas horizontales de madera que fueron sustituidas en un momento indeterminado, con anterioridad al traslado, por lamas de hierro.



Fot. 6. Vista general del interior de Edificio Metálico

Las fachadas frontales, como se observa en las Fotografías 4 y 5 están constituidas por un gran arco de medio punto coincidiendo con la nave central, bajo el que se abren las puertas de acceso adinteladas y con cerramiento metálico. En las enjutas y clave de cada arco había medallones con escudos de Badajoz y otros, los cuales se han conservado parcialmente. A ambos lados, las naves laterales tienen un cerramiento compuesto por tres vanos rematados en arquillos de proporción vertical.

En el traslado a su actual ubicación, el basamento original se elevó creando un semisótano de estructura de hormigón para apoyo del edificio, recubierto exteriormente de granito y con huecos para iluminación, que hizo necesaria la construcción de dos escalinatas en los accesos. Además se cambió el material original de la cubierta. Con posterioridad también se colocarían carpinterías de aluminio blanco.

Las fachadas laterales, como se observa en la Fotografía 7. Vista de la fachada lateral, se organizan repitiendo un módulo que se corresponde con la estructura principal, con un arco central de medio punto y dos arcos laterales rebajados separados por pilastras y columnillas de fundición de hierro. Sobre los huecos hay pequeños entrepaños ciegos con motivos de celosía en diagonal, y sobre estos unas rejillas, que junto con las molduras de orden clásico y los pequeños capiteles de las columnillas constituyen el elemento decorativo más destacado de esta construcción.

En el interior destaca la sencillez y ausencia de elementos decorativos, siendo la ligereza y el propio diseño de los elementos estructurales los que confieren atractivo a este amplio espacio proyectado con criterios funcionales. Únicamente los soportes de las farolas, de interés artístico, cuentan con un cierto desarrollo decorativo.

El edificio se proyectó en 1890 por Tomás Brioso Mappelli, arquitecto municipal, debido a la necesidad de ordenar las ventas de mercancías en la ciudad y hacerlo

según las modernas corrientes higienistas. En 1891 el proyecto fue aprobado por la Real Academia de San Fernando, aprobándose en 1892 su construcción mediante Real Orden. En 1897 se adjudicó la obra a D. Dionisio Hernández Tobías, finalizando la construcción en 1899. El mercado se inauguró el 17 de diciembre de ese año.

El mercado estaría en uso durante más de setenta años. Sin embargo, tanto lo angosto del espacio resultante al situar el edificio de nueva planta en la Plaza Alta como la ausencia de alcantarillado hasta la década de 1930, ocasionaron numerosos problemas de limpieza del entorno próximo, lo que motivó protestas de los comerciantes y vecinos.

Por ello, debido al interés del Ayuntamiento en ese momento por dejar expedita la plaza y liberar parte de las murallas de la Alcazaba, pero apreciando al mismo tiempo el valor patrimonial del edificio, se procedió, en colaboración con la Dirección General de Arquitectura, al desmontaje del mercado y a su posterior recomposición en 1975-1977 en el actual campus universitario. La reconstrucción del edificio se llevó a cabo con algunas modificaciones, tal y como se ha indicado.



Fot. 7. Vista de la fachada lateral

1.3. Estado actual

Recientemente, en diciembre de 2012, se declaró Bien de Interés Cultural con la categoría de Monumento por la Junta de Extremadura [2] y publicado en el BOE el 29 de enero de 2013 [3].

Respecto al uso posible del bien objeto de protección, el mismo deberá ser compatible con la conservación de las características arquitectónicas esenciales y valores estéticos del bien. En este sentido, se deberán conservar los elementos estructurales, decorativos y de cerramiento originales, y sustancialmente el carácter espacial tipológico del edificio original.

Por tanto, los posibles usos que se den a este bien deberán ser compatibles con la conservación del mismo y, en ningún caso, alterarán su valor patrimonial.

Respecto a los usos posibles del entorno de protección, los mismos serán los que tienen actualmente: zona ajardinada y viales. Los posibles usos que se den a este bien

deberán ser compatibles con la conservación del mismo y, en ningún caso, alterarán los valores que determinaron su declaración.

En 2006 se celebró el último acto público en el Edificio Metálico, la joya arquitectónica de la Universidad de Extremadura cuya promesa de reparación quedó bloqueada desde que en los dos últimos presupuestos generales del Estado se dejó de incluir un sólo euro de los 5,2 millones que le asignó el Ministerio de Vivienda hace cinco años, absorbido en la actualidad por el Ministerio de Fomento [4].

El Ministerio de Fomento no asumirá la rehabilitación del Edificio Metálico según lo publicado el 27 de mayo de 2013 en la edición digital del periódico Extremadura [5]. Esta actuación fue anunciada en el 2006 por la entonces titular del ya extinto Ministerio de Vivienda, María Antonia Trujillo, que firmó un protocolo con la Universidad de Extremadura (Uex) en el que se comprometía a que su departamento ejecutara y financiara la recuperación de este inmueble. Este mes se han cumplido siete años desde que se rubricó el acuerdo y el antiguo mercado de abastos, declarado Bien de Interés Cultural hace solo unos meses, sigue esperando su recuperación mientras su deterioro se acentúa.

La Dirección General de Arquitectura, Vivienda y Suelo explicó que el protocolo que se firmó en el 2006 suponía "tan solo una declaración de intenciones", lo que no conlleva ningún compromiso jurídico vinculante para la Administración, y que cuando se formalizó se crearon expectativas "sin tener en cuenta la disponibilidad presupuestaria existente en ese momento". Entonces, la inversión prevista para devolver a su estado original este inmueble y convertirlo en la construcción representativa de la universidad era de 5,2 millones de euros.

2. DIAGNÓSTICO DE CONSERVACIÓN Y MANTENIMIENTO

2.1. Estado actual de conservación y mantenimiento

En junio de 2007 el Boletín Oficial del Estado publicó el concurso para la realización del estudio integral, la redacción del proyecto básico y de ejecución y actuaciones preceptivas en materia de seguridad y salud de las futuras obras en el Edificio Metálico.

En julio de 2008 se adjudicaron estos trabajos, previendo que el concurso para la ejecución de las obras se convocara a principios 2009. La visita de un equipo de expertos a finales de 2008 a demanda de los arquitectos para analizar los 'achagues' del inmueble, como comprobar la cimentación, **extraer muestras de la estructura metálica**, ver cómo trabajan los tensores y el resto de piezas que sustentan un inmueble que ya soportó un traslado fue lo primero y lo último que se hizo allí por parte del gobierno central.

También la carpintería exterior del edificio está muy afectada. De hecho, algunos elementos decorativos se han tenido que retirar por el riesgo a que se desprendiesen. La situación en la que se encuentra el sótano no es mucho mejor, con desperfectos en techos y paredes a causa de la humedad.

Son las patologías estructurales y las de la cubierta las que más preocupan a la Universidad de Extremadura, según el jefe de la Unidad Técnica de Obras, Luis Cerro. Aunque en estos momentos no corre riesgo de venirse abajo --no existe ningún síntoma de que la estructura esté cediendo-- sí reconoció que "el tiempo juega en contra" del inmueble, uno de los escasos ejemplos de la arquitectura en hierro característica del finales del siglo XIX y principios del siglo XX que quedan en la región.

Fue en mayo del 2006 cuando la por entonces ministra de Vivienda, la extremeña María Antonia Trujillo, y la universidad firmaron un convenio para rehabilitar el edificio, con una inversión de 5,2 millones de euros aportados íntegramente por el ministerio (que desapareció como tal y fue asumido por Fomento). La redacción del proyecto se le adjudicó a la Unión de Empresas Temporales (UTE) Urbex Arquitectura, Enrique Medina y Ramón Sánchez por 386.000 euros.

El proyecto se elaboró, se llegaron a realizar las primeras catas --que revelaron patologías más graves de las que se intuían a simple vista-- e incluso se obtuvo la licencia de obras. La actuación pretendía devolver al edificio su aspecto original, al mismo tiempo que adecuar su uso para convertirlo en la construcción "representativa" de la universidad. Un gran salón de actos con capacidad para unas 500 personas ocuparía el 90% de la primera planta --que es diáfana--, donde también se ubicaría una pequeña sala de exposiciones. El espacio del sótano se repartiría entre oficinas y una sala de reuniones para el Consejo de Gobierno de la Universidad de Extremadura y para recibir a las distintas personalidades que visitan el campus.

Allí ha permanecido durante los últimos 36 años, pero el tiempo no pasa en balde y los achaques ya amenazaban su longeva vida. Un equipo de técnicos de la empresa Vorsevi se desplazó al campus universitario para analizar el estado de conservación del Edificio Metálico, aquejado de algunos males que sólo podrán ser corregidos con una adecuada restauración.

El delegado de Vorsevi en Badajoz, Ángel Acebes, es consciente de que una construcción de estas características puede durar toda la vida si el mantenimiento es adecuado. La experiencia le dice que en esa tarea serán claves los estudios de caracterización de estructura y cimentación.

La elaboración de ese proyecto fue adjudicada a un grupo de empresas madrileñas que han encomendado a Vorsevi el análisis del actual edificio. «Nosotros vamos a analizar la composición del terreno, las características de la cimentación, las dimensiones de las zapatas y todos aquellos datos que puedan resultar de interés», afirmó a pie de trabajo José Antonio Pérez Díaz, responsable del Departamento de Estructuras y Patologías de Vorsevi.

El análisis de los materiales que componen el entorno y de los que se utilizaron en la cimentación será fundamental para garantizar la supervivencia del edificio, pero no es ése el único aspecto que analizará Vorsevi. Su equipo de especialistas también hará diversas comprobaciones para saber si la cimentación existente puede soportar el salón de grados con pendiente que se quiere construir justo donde está el salón de actos. «Ahora mismo hay un

forjado (suelo) plano, pero se quiere evaluar si aguantará el nuevo uso que se le va a dar».

El estudio técnico también contemplaba la extracción de muestras de la estructura metálica que compone el edificio en sí, puesto que hay zonas puntuales donde la corrosión ha erosionado el material. «También vamos a ver si los tensores que hay en la zona alta mantienen la tensión que tuvieron», añade Pérez Díaz.

Los técnicos que analizaron el edificio metálico han llegado a la conclusión de que las zonas más afectadas por el óxido son muy localizadas. «Fundamentalmente están en los lugares donde el agua ha tenido una mayor presencia».

En el Edificio Metálico de Badajoz se tomaron muestras de los pórticos de fundición, de los tensores y del resto de piezas para saber su aguante, pero en otros casos se someten a prueba la piedra o la madera.

2.2. Corrosión de la Estructura Metálica



Fot. 8. Muestra metálica en su cara exterior



Fot. 9. Muestra metálica en su cara interior

He procedido a la obtención de una muestra metálica (que estaba desprendida), y que se observa en las muestras metálicas de las Fotografías 8 y 9, de la pilastra exterior del Edificio Metálico de Badajoz, que se observa en la Fotografía 10. Vista de la pilastra de obtención de la muestra metálica. De la observación de visu, se desprende que la muestra metálica, de hierro fundido, de dimensiones de 7 cm de un vértice a otro, y de 6 mm de espesor presenta una corrosión electroquímica medio ambiental, bastante acentuada y generalizada por efecto del agua que es mayor en la cara externa que en la cara interna, como se desprende de la observación de las Fotografías 8 y 9 respectivamente, por estar expuesta la cara externa a una acción más intensa del agua y del medio ambiente. En la cara externa se presenta descascarillamiento de gran parte de la masa superficial en la cual se habrán formado gran cantidad de óxidos e hidróxidos de hierro y otros compuestos químicos por efecto de la corrosión electro-

química que habría que identificar por diferentes técnicas de análisis como se propone en el punto 3.1: Técnicas a utilizar en la caracterización.



Fot. 10. Vista de la pilastra de la obtención de la muestra metálica

La **corrosión generalizada** es la que tiene lugar cuando un metal se ataca uniformemente en toda la superficie que está en contacto con el medio agresivo. Este tipo de corrosión da lugar a que el metal sea atacado progresivamente, experimentando la inevitable pérdida de peso y disminución de sus dimensiones.

La muestra metálica con corrosión electroquímica generalizada estaba desprendida de la base de la pilastra de la Fotografía 10, con lo cual dicha **pilastra en su base, presenta una grave corrosión electroquímica localizada**, que es la que se produce en zonas de extensión limitada. Sin presentar la gravedad de la **corrosión intercrystalina** su acción es muy peligrosa, porque es más activa que la corrosión general y puede localizarse en sitios poco visibles, y, por tanto, pasar desapercibida hasta que sus efectos se hacen sensibles por rotura de las piezas en que se presenta este tipo de corrosión.

Las corrosiones localizadas se originan, por ejemplo, por discontinuidades en las capas protectoras. Especialmente dañinas son las picaduras, focos de corrosión que adquieren en principio la forma de minúsculas cavidades. La picadura compone una pila local en la que la corriente eléctrica fluye a través del electrolito desde la región anódica -fondo de la picadura- a la región catódica colindante. Como el área anódica central es pequeña, la densidad de corriente es elevada, lo que explica las altas velocidades de penetración.

Las picaduras pueden originarse por fallos puntuales de las capas de protección (por ejemplo en tuberías galvanizadas), debidos a causas mecánicas o de otro tipo, por depósito de partículas extrañas agresivas que inician la corrosión (por ejemplo pequeñas partículas de cobre en tuberías galvanizadas), o por microheterogeneidades de naturaleza química, como inclusiones, etc.

La corrosión electroquímica de los metales, llamada también corrosión húmeda, se produce cuando el metal se halla en contacto con electrolitos, entendiéndose por tales, medios ionizados (agua, soluciones salinas, ácidos, bases, etc).

Cuando el metal se introduce en un electrolito, pasan, en función de la tensión de disolución, iones positivos del metal hacia el electrolito, a la vez que iones positivos del metal, existentes en el electrolito tienden a depositarse en el metal. Esto ocurre hasta que la concentración de iones del metal en este medio alcanza un valor en el que se establece un equilibrio entre los dos movimientos. Si por algún procedimiento se van eliminando los iones existentes en el electrolito, la disolución del metal en él continuará en tanto exista metal o electrolito, salvo que por alguna razón se proteja a aquél. La intensidad o velocidad del ataque, depende de varios factores, entre ellos, de la concentración de iones negativos (aniones) en el electrolito, así como de las posibles capas protectoras que, como consecuencia del fenómeno, se formen en los ánodos.

Todas las pilastras de la estructura metálica exterior del Edificio Metálico de Badajoz, presentan corrosión electroquímica, unas pilastras presentan corrosión generalizada y otras corrosión localizada en distintos puntos de las mismas sobre todo en su base.

3. CARACTERIZACIÓN DE LA CORROSIÓN DE LA ESTRUCTURA METÁLICA

La alteración más frecuente del hierro es debida a la acción del oxígeno, en presencia de humedad. En estas condiciones se forman diferentes **óxidos e hidróxidos** de hierro, los más frecuentes son: **Goetita** (-FeO(OH) de color ocre-amarillo, **Lepidocrocita**: (-FeO(OH) de color rojo-naranja, **Akaganita**: (-FeO(OH) de color marrón-rojizo, **Limonita** FeO(OH) nH_2O de color ocre-amarillo, **Magnetita** Fe₃O₄ de color negro, **Hematite** Fe₂O₃ de color gris-rojizo, También son frecuentes los carbonatos, **siderita** (FeCO₃), sulfuros, **pirita** (S.Fe) y oxiclорuros (FeOCl). La corrosión del hierro, implica un **aumento de volumen**, que genera problemas de **incompatibilidad con otros materiales**, por problemas de tensiones, pudiendo generar **fracturas, fisuras o fragmentaciones**. Los procesos de corrosión del hierro, se pueden, producir de forma cíclica, fenómeno que se conoce como **sudado del hierro** [6]. De la observación de visu de la muestra metálica, se podría deducir de las Fotografías 8 y 9 que la muestra metálica debido a sus tonos de color marrón-rojizo, ocre-amarillo, color negro y color gris-rojizo en distintos puntos de la muestra, podría contener **Akaganita, Limonita, Magnetita y Hematite**, (todos o una combinación de alguno de ellos). Estos compuestos inorgánicos y su concentración relativa en porcentaje en peso, caso de existir, tendrían que ser confirmados y determinados por las técnicas de Difracción de Rayos X y Microscopía Electrónica de Barrido, así como por Espectroscopía de Rayos X de Dispersión de Energías, técnicas de caracterización propuestas en los puntos 3.1.2 y 3.1.3 respectivamente [6].

3.1. Técnicas a utilizar en la caracterización de la corrosión de la muestra metálica

3.1.1. Análisis metalográfico

El análisis metalográfico de la muestra metálica nos permitirá identificar el tipo de hierro fundido (gris, blanco,

atruchado, maleable, aleado, etc) así como los constituyentes metalúrgicos del hierro fundido que afectan a su fragilidad, resistencia y tenacidad, como son la ferrita, la cementita, la perlita y el grafito [7].

3.1.2 Difracción de Rayos X (XRD, X-Ray Diffraction)

Mediante esta técnica podremos determinar, la composición relativa de todos los compuestos químicos inorgánicos cristalinos de la fundición de hierro (muestra metálica), así como la composición relativa de los productos de corrosión inorgánicos que sean cristalinos.

3.1.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, Scanning Electron Microscopy) y Espectroscopía De Rayos X De Dispersión de Energías (EDX, Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy)

Mediante la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con sonda de EDX, podremos determinar, a través de las distintas microfotografías realizadas en distintos puntos de la muestra metálica, el mapeado composicional (los distintos elementos químicos que están igualmente distribuidos por toda la imagen de la microfotografía), lo cual nos complementará el análisis realizado por la técnica de Difracción de Rayos X (XRD), para determinar otros compuestos inorgánicos presentes en la muestra metálica que no sean cristalinos, es decir, que no difracten (no cumplan la Ley de Bragg).

4. CONSERVACIÓN Y RESTAURACIÓN DE LA ESTRUCTURA METÁLICA

En cuanto a la futura conservación y restauración de la estructura metálica del Edificio Metálico de Badajoz, se tendría que tener en cuenta en primer lugar, que la conservación siempre tendrá prioridad sobre la restauración, de acuerdo con la Carta de Venecia de 1964 (Carta Internacional sobre la Conservación y Restauración de los Monumentos y los Sitios) [8]. Cuando el futuro proyecto de intervención, se apruebe por la administración correspondiente y competente (Ministerio de Fomento) y se ejecute, las empresas especializadas que ejecuten el proyecto tendrán que retener la mayor cantidad de datos diagnósticos posibles, también tendrán que tener en cuenta que los procesos de tratamiento permanezcan estables químicamente, hacer todo lo posible para preservar las superficies originales, es decir la forma y las dimensiones, desarrollar tratamientos reversibles y por último realizar el examen preliminar de toda la estructura metálica del Edificio Metálico, para determinar el curso de las acciones.

Es muy importante el examen preliminar del Edificio Metálico para determinar el curso posterior de las acciones, a fin de preservar su integridad y mantener cualquier atributo significativo o rasgos que se relacionen con su manufactura o microestructura. Todos estos datos, como sabemos, pueden validar su autenticidad.

El **primer objetivo** a realizar en la conservación de la estructura metálica del Edificio Metálico, sería realizar su **limpieza** mediante la eliminación del polvo, de la grasa,

de los depósitos calcáreos y de los productos de la corrosión detectados (lo cual se podría hacer mediante métodos mecánicos, electroquímicos o químicos). El **segundo objetivo** sería garantizar la **estabilización** de la estructura metálica, lo cual se puede lograr impidiendo la acción dañina de los ambientes agresivos que, como los iones cloruros, son los responsables del sudado del hierro, lo cual se puede lograr con lavados acuosos alcalinos y el **tercer objetivo** que se debería alcanzar con un tratamiento de conservación, es la **preservación posterior** de la estructura metálica para evitar la corrosión electroquímica medio ambiental, con el cual se lograría su protección de la acción de los componentes agresivos del medio ambiente, impidiendo o retardando el desarrollo de nuevos procesos de deterioro, y evitando así tener que estarlo interviniendo frecuentemente. **Recubrimientos como las ceras, los barnices, las resinas, y las pinturas, entre otros, pueden servirnos para estos fines, así como la protección catódica**, la cual consiste en provocar un par galvánico con otro metal de forma que éste último sea el ánodo de par galvánico provocado, con lo cual es éste metal el que sufre los efectos de la corrosión (**se llama ánodo de sacrificio**), mientras que el metal que se trata de proteger constituye el cátodo del par galvánico, no siendo afectado, por tanto, por la corrosión. Los ánodos de sacrificio suelen ser de cinc o magnesio; este último da una elevada tensión de protección.

En el mercado actual hay protecciones para la fundición de hierro más baratas y más caras, hay imprimaciones que protegen los elementos férricos de la corrosión y también existen protecciones catódicas que evitan la corrosión electrolítica: con un mantenimiento bueno, un edificio como éste puede durar toda la vida.

5. CONCLUSIONES

Recientemente se ha hecho público que el Ministerio de Fomento no asumirá la rehabilitación (que incluiría la conservación y/o restauración) del Edificio Metálico de Badajoz, según lo publicado el 27 de mayo de 2013 en la edición digital del periódico Extremadura [5], el cual está declarado Bien de Interés Cultural con la categoría de Monumento [3], por tanto, debido a esta situación de carácter económico presupuestaria, la degradación por corrosión electroquímica medio ambiental de la estructura metálica del Edificio Metálico de Badajoz (antiguo Mercado de Abastos) continuará progresando de forma agravante, independientemente de otras patologías arquitectónicas que presenta el Edificio y que ya han sido expuestas.

REFERENCIAS

- [1] Resolución de 2 de mayo de 2012, de la Consejería de Cultura de la Junta de Extremadura. Incoacción de Expediente de Declaración de Bien de Interés Cultural con la categoría de Monumento para el Edificio Metálico (antiguo mercado de abastos) de Badajoz. DOE (Diario Oficial de Extremadura) N° 104 de 31 de mayo de 2012.
- [2] Decreto 251/2012, de 18 de diciembre, por el que se declara el Edificio Metálico (antiguo mercado de abastos) en el término

municipal de Badajoz como Bien de Interés Cultural, con categoría de Monumento. DOE (Diario Oficial de Extremadura) N° 247 de 24 de diciembre de 2012.

- [3] Decreto 251/2012, de 18 de diciembre, por el que se declara el Edificio Metálico (antiguo Mercado de Abastos) en el término municipal de Badajoz como Bien de Interés Cultural, con categoría de Monumento. BOE N° 25 de 29 de enero de 2013.
- [4] Edición digital del Periódico HOY. <http://www.hoy.es>
- [5] Edición digital del Periódico Extremadura, <http://www.elperiodicoextremadura.com>
- [6] Tema 3. Diagnóstico del Estado de Conservación de Obras Metálicas, Curso de Diagnóstico y Restauración de Obras Metálicas de Interés Histórico-Artístico. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla. Curso 2012/2013.
- [7] Tema 3. Aspectos metalúrgicos y metalográficos en la conservación y restauración de metales, Curso de Diagnóstico y Restauración de Obras Metálicas de Interés Histórico-Artístico. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla. Curso 2012/2013.
- [8] Tema 4. Procedimientos, métodos y materiales para la conservación de objetos metálicos, Curso de Diagnóstico y Restauración de Obras Metálicas de Interés Histórico-Artístico. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla. Curso 2012/2013.

MoleQla Sanitaria



1 Pta.

TOS
PASTILLAS
BAMBÚ

BRONQUITIS • ASMA • GARGANTA

LABORATORIOS L.V.S.A. - FERRER DEL RIO, 34 - MADRID

Fármacos comerciales contra el SIDA y sus dianas específicas

Yolanda Elizabeth González Flores

Resumen— Las terapias antiretrovirales han supuesto un gran avance en la lucha contra el SIDA. Los medicamentos desarrollados hasta el momento se dirigen hacia diferentes dianas: la fusión y entrada del virus, la retrotranscriptasa, la integrasa y la proteasa. En este artículo se dará una visión general de los fundamentos de los distintos tipos de fármacos y algunos ejemplos de los mismos.

Palabras Claves— Fármaco, inmunodeficiencia, maraviroc, SIDA, VIH.

1. INTRODUCCIÓN

Las terapias antiretrovirales (ART) han supuesto un gran avance en la lucha contra el SIDA, hasta el punto de que una combinación de ART apropiada y su uso generalizado en los países desarrollados a mitad de los años 90 hizo descender las muertes de personas con VIH en 2/3 entre 1995 y 1997. Más aún la esperanza de vida de las personas con SIDA gracias a las ART ha aumentado de 10.5 años en el '96, a 22.5 años en el 2005 y actualmente se estima que se está aproximando al de la población general [1].

En la actualidad existen 30 medicamentos comerciales, como se puede observar en la Tabla 1, algunos de ellos compuestos por un solo fármaco y otros por una combinación de ellos. Además, como ahora veremos, estos fármacos se clasifican en función de la diana a la que afectan: inhibidores de la retrotranscriptasa nucleosídicos/nucleotídicos o no nucleosídicos, inhibidores de la proteasa, inhibidores de la integrasa, inhibidores de la fusión y entrada y regímenes de comprimido único. En este artículo se dará una explicación de las distintas dianas contra las que se dirigen los medicamentos contra el VIH [2].

TABLA 1
MEDICAMENTOS COMERCIALES CONTRA EL SIDA

Inhibidores de la retrotranscriptasa nucleosídicos/nucleotídicos	Prezista (darunavir)
Combivir (zidovudina+lamivudina)	Reyataz (atazanavir)
Emtriva (emtricitabina)	Virecept (nelfinavir)
Epivir (lamivudina)	Inhibidores de la retrotranscriptasa no-nucleosídicos
Epizicom (abacavir+lamivudina)	Edurant (rilpivirina)
Retrovir (zidovudina)	Intelence (etravirina)
Trizivir (abacavir+zidovudina+lamivudina)	Rescriptor (delavirdina)
Truvada (tenofovir+emtricitabina)	Sustiva (efavirenz)
Videx EC (didanosina)	Viramune XR (nevirapina)
Viread (tenofovir)	Inhibidores de la integrasa
Zerit (estavudina)	Isentres (raltegravir)
Ziagen (abacavir)	Inhibidores de la fusión y entrada
Inhibidores de la proteasa	Fuzeon (enfuvirtida)
Aptivus (tipranavir)	Selzentry (maraviroc)
Crixivan (indinavir)	Regímenes de comprimido único
Invirase (saquinavir)	Atripla
Kaletra (lopinavir)	(efavirenz+tenofovir+emtricitabina)
Lexiva (fosamprenavir)	Completa
Norvir (ritonavir)	(rilpivirina+tenofovir+emtricitabina)

Clasificación de los medicamentos contra el SIDA actuales y los fármacos que los componen entre paréntesis [2].

2. TIPOS DE MEDICAMENTOS Y SUS DIANAS

2.1. Inhibidores de la entrada del virus

En primer lugar los inhibidores de la entrada del virus, como el Fuzeon y el Selzentry impiden la entrada del virus en su célula diana, los linfocitos T helpers o coadyuvantes, una células fundamentales del sistema inmune. El VIH, o virus del SIDA, necesita unirse a los receptores CD4 que se encuentran en la superficie de estos linfocitos para poder penetrar en ellos. Estos medicamentos se unen a los receptores CD4, impidiendo, por tanto, que el VIH pueda unirse a ellos. Por otro lado, para la entrada del VIH, además de los receptores CD4 son imprescindibles los correceptores CXCR4 y/o CCR5, por lo que hay medicamentos que se encargan de bloquear estos correceptores. Finalmente, la proteína de la cápsida (cubierta proteica) del virus que reconoce a los receptores CD4 es la gp120, por lo que algunos fármacos se dirigen contra ella [2].

2.2. Inhibidores de la retrotranscriptasa

Una vez que el virus es capaz de introducir su material genético, dos fragmentos de ARN de cadena simple, en las células, el virus necesita convertir estos ARN en ADN, que es la manera en la que se encuentra el genoma de las células humanas. Para ello, es necesaria una enzima que se encuentra en la cápsida del virus y que entra en la célula junto con el ARN de este, la retrotranscriptasa. Al ser este otro paso fundamental, algunos medicamentos se dirigen contra esta diana, como Combivir y Emtriva. Estos medicamentos pueden ser de dos tipos: nucleosídicos/nucleotídicos y no-nucleosídicos. Los primeros consisten en análogos, es decir, moléculas parecidas pero no idénticas, a los nucleótidos, que son los monómeros por los que está formado el ADN. Cuando la retrotranscriptasa del virus intenta usar estos "nucleótidos falsos", la cadena de ADN no se puede formar correctamente, impidiendo por tanto que el material genético del virus

pueda incorporarse a la célula y el virus pueda continuar con su ciclo infeccioso. La diferencia entre los nucleosídicos y los nucleotídicos es que los primeros necesitan un paso previo de activación por fosforilación para convertirse en los segundos. En cuanto a los no-nucleosídicos, estos simplemente se unen a la retrotranscriptasa impidiendo que esta convierta el ARN en ADN y consiguiendo el mismo efecto que los anteriores [2].

2.3. Inhibidores de la integrasa

Una vez el ARN del virus se ha retrotranscrito a ADN, es necesario que este ADN se integre en el ADN del linfocito infectado para poder ejercer su acción. Esta acción es llevada a cabo por una enzima vírica llamada integrasa, que es la diana de medicamentos como el Isentress que impiden la acción de esta enzima [2].

2.4. Inhibidores de la proteasa

Finalmente, una vez que el DNA del virus está integrado en la célula, es transcrito a ARN mensajero y este traducido a proteína. Sin embargo, para ser funcionales, estas proteínas víricas necesitan ser cortadas por una proteasa vírica. Algunos medicamentos como Aptivus y Crixivan se encargan de bloquear la acción de esta proteasa, impidiendo la creación de proteínas víricas funcionales. Sin embargo, es recomendable que este tipo de medicamentos se usen en combinación con al menos otros dos fármacos [2].

3. MARAVIROC, UN INHIBIDOR DE LA ENTRADA

Ahora nos vamos a centrar un poco en el fármaco maraviroc (Figura 1), componente del medicamento Selzentry, que es un inhibidor de entrada, siendo un antagonista selectivo CCR5.

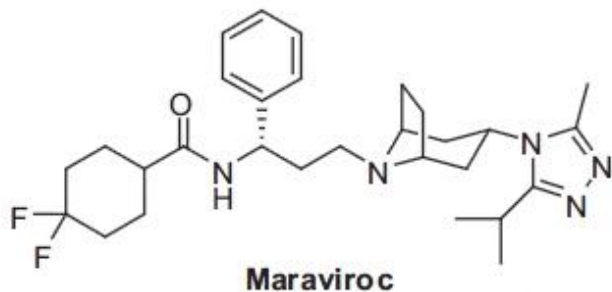


Fig. 1. Estructura química del fármaco maraviroc [3].

El correceptor CCR5 tiene 7 hélices transmembrana representadas en color cian en la Figura 2 y numeradas en la misma con números romanos. Como se puede ver en la Figura, el maraviroc (coloreado en naranja) interactúa

con las hélices I, III, V, VI y VII, concretamente con los aminoácidos que se muestran en negrita en la Figura: Triptófano 86 (W86), Ácido Glutámico 283 (E283), Tirosina 108 (Y108), Tirosina 251 (Y251) e Isoleucina (I198) mediante interacciones fuertes [4].

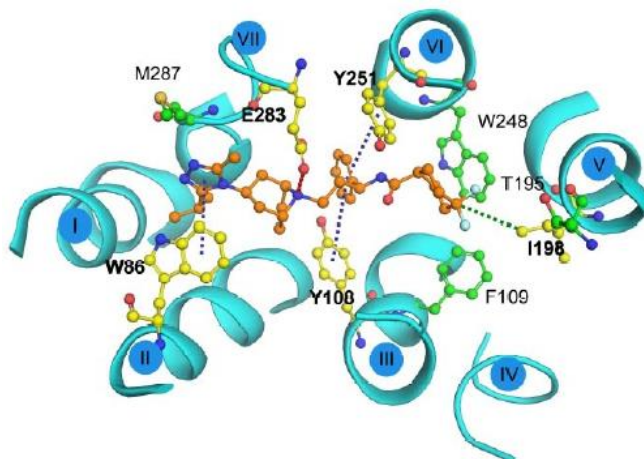


Fig. 2. Interacción del fármaco maraviroc con el correceptor CCR5 de los linfocitos Th [4].

Gracias a estas interacciones de maraviroc con el correceptor CCR5, este último queda bloqueado y es incapaz de unirse a la proteína gp120 del VIH, impidiéndose, por tanto la fusión de la membrana del virus con la membrana celular y la entrada del virus [3].

4. CONCLUSIONES

Como se ha visto, existen diversas dianas contra las que pueden dirigirse fármacos contra el VIH, consistiendo los tratamientos actuales en distintas combinaciones de estos fármacos para lograr el mejor efecto, a nivel de la disminución o eliminación de los síntomas en los pacientes. El ritmo de descubrimiento de nuevos fármacos ha sido muy elevado en los últimos años y se ha logrado una gran mejora en la calidad de vida de los pacientes de SIDA. A pesar de todo lo expuesto, todavía existen muchos estudios de desarrollo de nuevos y mejores fármacos contra el SIDA, además de estrategias distintas al uso de medicamentos químicos, como la que se expone en el artículo "Una singular estrategia de evasión contra el SIDA" en el número 4 de esta revista, páginas 118-120. Con todos estos estudios se pretende alargar lo máximo posible y hacer más llevadera y sencilla la vida de las personas afectadas por esta enfermedad, y quizás en un futuro no muy lejano se pueda encontrar una estrategia para erradicarla totalmente.

REFERENCIAS

- [1] R. M. Gulick, MD and MPH, "Antiretroviral Treatment 2010: Progress and Controversies". *J Acquir Immune Defic Syndr.*, no. 55, Suppl 1, pp. 43-48, Dec 2010, doi: 10.1097/QAI.0b013e3181f9c09e.
- [2] Web de AIDSMEDES. www.aidsmeds.com
- [3] K. Qian, S.L. Morris-Natschke and K.H. Lee, "HIV entry inhibi-

tors and their potential in HIV therapy”, *Medical Research Reviews*, vol. 29, no. 2, pp. 369-393, Mar 2009, doi: 10.1002/med.20138

- [4] R. Kondru, J. Zhang, C. Ji, T. Mirzadegan, D. Rotstein, S. Sankuratri and M. Dioszegi, “Molecular Interactions of CCR5 with Major Classes of Small-Molecule Anti-HIV CCR5 Antagonists”, *Molecular pharmacology*, vol. 73, no. 3, pp. 789-800, Mar 2008, doi: 10.1124/mol.107.042101.



Yolanda Elizabeth González Flores estudia actualmente 5º de Licenciatura en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. Está muy interesada en el campo de la Microbiología, habiendo trabajado con la beca JAE Intro 2011 en el proyecto “Creación de proteínas de fusión estables para optimizar la transferencia de ADN a células humanas mediante sistemas de secreción tipo IV bacterianos” bajo la dirección de la doctora Matxalen

Llosa en el Centro de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, y habiendo participado en las fases Europea y Mundial del concurso internacional de Biología Sintética iGEM 2011 con el proyecto “Flashbacter: Improving Bistability”, con el equipo UPO Sevilla. Una vez acabada su Licenciatura, su objetivo es hacer su doctorado en el campo de la Microbiología.

ESQUIZOFRENIA

Pablo Pérez Franco

Resumen— La esquizofrenia es una enfermedad mental que afecta al 1% de la población. Se caracteriza por producir un abanico de trastornos mentales que afectan gravemente a la vida del paciente. No se conocen con exactitud las causas y los mecanismos de patogénesis, lo cual impide determinar inequívocamente quién puede sufrirla y desarrollar fármacos para combatirla de manera eficaz.

Palabras Claves— Esquizofrenia, Psicopatología, Sistema nervioso, Antipsicótico.

1. INTRODUCCIÓN: DEFINICIÓN

Se denomina esquizofrenia a una grave enfermedad manifestada a través de una serie de trastornos mentales severos de diverso tipo que afectan a los pensamientos, las emociones y el comportamiento. Dichos trastornos suelen aparecer en adolescentes o adultos jóvenes, aunque los casos en la niñez no son excepcionales. El diagnóstico correcto de esquizofrenia se dificulta debido a la variedad de trastornos psicóticos que pueden llegar a aparecer a la hora de analizar un cuadro clínico, por lo que cada grupo de trastornos psicóticos tiene sus propios criterios para ser analizados.

2. SÍNTOMAS

A pesar de que se diagnostican diversos tipos de esquizofrenia, los síntomas de todas ellas se han englobado tradicionalmente en dos tipos: positivos y negativos. Los primeros son aquellos que, de una forma u otra, producen experiencias adicionales respecto a individuos sanos. Entre los síntomas positivos destacan: delirios, entendiéndose como tal a creencias que no se adecúan a la realidad (sentimiento de control por parte de un agente externo, sensación de tener habilidades únicas, sensación de ser perseguido...); alucinaciones, de las cuales la más común es la acústica, aunque el resto de percepciones también pueden verse afectadas, incluyendo la propiocepción; comportamiento catatónico o extraño, en el que el sujeto actúa de forma maniática, o aparentemente sorprendido. Los segundos síntomas, negativos, son aquellos que se asocian a una inactividad en el comportamiento, por ejemplo, apatía o embotamiento afectivo.

Los síntomas expuestos parecen tener relación con cambios en la estructura del sistema nervioso que, como consecuencia, afectan a su normal funcionamiento. De hecho, individuos aquejados de esquizofrenia suelen presentar problemas a nivel de sistema nervioso central (p.e. déficit cognitivo o motor) antes de que se les diagnostique la enfermedad por los síntomas descritos anteriormente. Se ha observado que casi toda la zona cortical y subcortical del cerebro está afectada en la esquizofrenia, así como la asimetría característica entre el hemisferio derecho e

izquierdo. Se observan también anomalías en el volumen cerebral, relacionadas con la densidad de dendritas, axones y terminales pre y postsinápticos y el tamaño de los cuerpos celulares. También se ven afectadas las células de la glía en algunas zonas. Adicionalmente, se presentan cambios bioquímicos, como carencia de N-acetilaspártato en las neuronas. Estudiando estas diferencias se han propuesto mecanismos moleculares que expliquen la enfermedad.

3. CAUSAS Y PATOGÉNESIS

Se desconocen las causas de la esquizofrenia. La esquizofrenia afecta aproximadamente a un 1% de la población general. En gemelos monocigóticos, la probabilidad de que un hermano sea diagnosticado con esquizofrenia si la padece el otro oscila entre 11-28%, mientras que en mellizos o gemelos dicigóticos es de 2-5%. Se observa, pues, que existe una predisposición genética a padecer la enfermedad, pero deben intervenir múltiples factores ambientales que determinen el desarrollo de la misma.

La herencia de la esquizofrenia no es sencilla. El condicionamiento genético a padecer la enfermedad no depende de un solo gen. Existen varios genes (Tabla 1) que cuando se encuentran mutados tienen un pequeño efecto individual pero que, combinados, inducen la esquizofrenia. Más aún, cada uno tiene un impacto sobre una variante concreta de la enfermedad. A pesar de los datos poblacionales y la aparente relación, los datos no son a

TABLA 1
GENES INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO DE
ESQUIZOFRENIA

Gen (localización)	Descripción
COMT (22q11)	Catecol-O-metiltransferasa
DAO/DAOA (13q22)	Oxidasa de D-aminoácidos/ activador de DAO
DISC1 (1q42)	Gen afectado en esquizofrenia 1
DTNBP1 (6p22)	Proteína de unión a distrobrevina 1
RGS4 (1q21-22)	Regulador de señalización por proteína G 4
GRM-3 (7q21-22)	Receptor de glutamato metabotrópico 3
NRG1 (8p12-21)	Neuregulina 1

Se muestran algunos genes afectados en pacientes con esquizofrenia, su localización y una breve descripción de cada uno. [1]

día de hoy concluyentes.

Los factores ambientales son muy diversos, y existen hipótesis que los considerarían decisivos para el desarrollo de la enfermedad. Se han estudiado multitud de variables que inciden en mayor o menor medida. Existen dos hipótesis que tratan de explicar esta enfermedad. Por un lado, la hipótesis de la infección viral sostiene que una exposición a agentes infecciosos de este tipo durante una etapa concreta del desarrollo embrionario podría afectar al desarrollo del sistema nervioso y causar la enfermedad. Por otro lado, la hipótesis diátesis-estrés sostiene que la enfermedad se desarrolla porque los sujetos de alguna forma han adquirido cierta vulnerabilidad a la esquizofrenia. En presencia de factores ambientales, se desencadena un proceso que impide la correcta formación del sistema nervioso. Es aquí donde se englobarían las variables como estilo de vida, estado psicológico y emocional, lazos familiares, etc.

Se requieren modelos moleculares y fisiológicos que expliquen cómo las causas antes mencionadas culminan en la patogénesis de la esquizofrenia. En este sentido, encontramos dos modelos: modelo neuroquímico y modelo de desarrollo neural:

- **Modelo neuroquímico:** El modelo neuroquímico integra varios procesos moleculares: afectación de receptores de glutamato o N-metilaspártato (NMDA), sustentado en que drogas bloqueantes (PCP, por ejemplo) son capaces de simular los síntomas, mientras que las activadoras los disminuyen; disfuncionalidad de neuronas productoras de ácido γ -aminobutírico (GABA), importantes en la regulación del procesamiento de la información; anomalías en el sistema de serotonina, concretamente en uno de los receptores de esta sustancia, pueden provocar algunos síntomas de la esquizofrenia y, por último, desequilibrio en los sistemas regulados por dopamina.
- **Modelo de desarrollo neural:** El modelo del desarrollo neural propone que un evento es capaz de interrumpir el proceso de maduración cerebral, lo que se puede comprobar analizando la estructura del cerebro de sujetos afectados. Las causas de dichos procesos pueden ser tanto endógenas como exógenas, por ejemplo, los factores ambientales mencionados anteriormente.

4. TRATAMIENTO

Una vez que se han analizado las causas y los mecanismos de patogénesis, cabe abordar el aspecto del tratamiento (aunque en medicina esto ocurre a la inversa normalmente). La esquizofrenia no tiene cura. Se busca mejorar la calidad de vida de los pacientes mediante tratamientos paliativos, pues cabe destacar que los esquizofrénicos tienen tasas de mortalidad más altas que la po-

blación general debido a ciertas conductas propias, como el consumo de drogas o el suicidio.

El primer medicamento realmente eficiente en el tratamiento de la esquizofrenia fue la clorpromazina, un antipsicótico, introducido en la década de los 50. A partir de la clorpromazina, se desarrolló la primera línea de antipsicóticos, llamados de primera generación o típicos, que siguen siendo muy empleados hoy día. Un cuarto de siglo después se comenzó a usar clozapina que tiene alta afinidad por los receptores serotonina (5-HT_{2a}) pero no por los de dopamina (D₂), a los que puede llegar a bloquear indirectamente. No obstante, debido a su toxicidad (provoca agranulocitosis) no tuvo una mayor difusión, aunque a partir de ese momento se buscaron drogas con los mismos efectos sin efectos secundarios indeseables, que constituyen la familia de fármacos de segunda generación o atípicos.

Los fármacos actuales son eficaces para los síntomas positivos de la enfermedad, pero su éxito con los negativos es escaso, por lo que se requieren otros tratamientos, como el psicológico, para optimizar los resultados de la medicación. Más aun, algunos fármacos se han asociado a un incremento en la mortalidad de los pacientes, por lo que se debe continuar investigando en los mecanismos de patogénesis con objeto de obtener medicamentos más eficaces, más aun considerando lo devastadora y extendida que es la esquizofrenia.

La esquizofrenia lleva asociada ciertas dificultades que imposibilitan la obtención de fármacos del todo eficaces para su tratamiento. Los existentes a día de hoy, aparte de tener efectos secundarios muy severos, actúan mayormente sobre los efectos positivos. Se han propuesto algunas sustancias para el tratamiento de síntomas negativos, como agonistas de los receptores 5-HT. Esto podría parecer contradictorio con los tratamientos antipsicóticos que se realizan hoy en día, sin embargo, la esquizofrenia es una enfermedad tan compleja que el mismo estímulo en zonas distintas del cerebro pueden producir situaciones completamente diferentes. Así pues, una futura línea de terapia podría consistir en la especificidad de localización del fármaco.

Respecto a la búsqueda de nuevas dianas, no parece ser una línea que se esté desarrollando ampliamente. Según el modelo bioquímico, en la esquizofrenia se ven afectados múltiples sistemas de sinapsis y neurotransmisión. No obstante, como se vio anteriormente, muchos de ellos se encuentran interrelacionados. Es probable que, en última instancia, se vea afectado el sistema de NMDA, pero actuar sobre él directamente y de forma eficaz es una posibilidad que a día de hoy no parece factible, al menos fuera del ámbito del laboratorio

REFERENCIAS

- [1] R.M. Twyman and N. Amin., "Schizophrenia: Genetics", *Encyclopedia of Neuroscience*, L.R. Squire, ed., Elsevier, pp. 459-462, 2009.
- [2] J. Schiffman and E. Walker. "Schizophrenia", *The Disorders*, H.S. Friedman, ed., Specialty Articles from the Encyclopedia of Mental Health, Elsevier, pp. 367-377, 2001.
- [3] D.N.C. Jones, J.E. Gartlon, A. Minassian, W. Perry and M.A.

Geyer, "Developing New Drugs for Schizophrenia: From Animals to the Clinic", *Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery*, R.A. McArthur and F. Borsini, eds., Elsevier, pp. 199-261, 2008

- [4] M. Rothermundt and V. Arolt. "Schizophrenia and Immunity", *Psychoneuroimmunology (Fourth Edition)*, R. Ader, ed., vol. I, pp. 563-577, 2007.
- [5] E. Antonova, T. Sharma, R. Morris and V. Kumari. "The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review", *Schizophrenia Research*, vol. 70, Issues 2-3, pp. 117-145, Oct 2004.
- [6] W.G. Frankle. "Schizophrenia: Epidemiology, Clinical Features, Course and Outcome", *Encyclopedia of Neuroscience*, L.R. Squire, ed., Elsevier, pp. 453-458, 2009.
- [7] T.A. Ban. "Neuropsychopharmacology and the genetics of schizophrenia: A history of the diagnosis of schizophrenia", *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, vol. 28, Issue 5, pp. 753-762, Aug 2004.
- [8] S. Weinmann, J. Read, V. Aderhold. "Influence of antipsychotics on mortality in schizophrenia: Systematic review", *Schizophrenia Research*, vol. 113, Issue 1, pp. 1-11, August 2009.



Pablo Pérez Franco cursaba en el momento de la publicación el tercer curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide.

Nuevos inhibidores de la bomba de protones en desarrollo: derivados imidazopirídínicos

Pedro Jesús Murillo Martín

Resumen— Desde su comercialización en los años 80, los inhibidores de la bomba de protones basados en derivados benzimidazoles se han convertido en uno de los grupos de fármacos más empleados para paliar diversas patologías relacionadas con la secreción de ácido gástrico. En el campo de investigación farmacológica, se encuentran en desarrollo derivados de la imidazopiridina, como el tenatoprazol.

Palabras Claves— IBP, bencimidazol, imidazopiridina, tenatoprazol, omeprazol.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los IBP (inhibidores de la bomba de protones) son los inhibidores más potentes de la secreción del ácido gástrico, actúan sobre la vía final de los mediadores del control de la secreción de HCl, terminando por reemplazar al grupo de fármacos bloqueadores de los receptores H₂, con menor efectividad en el tratamiento.¹

Estos fármacos son ampliamente usados para el tratamiento de la dispepsia, reflujo gastroesofágico y larínfaringeo, esófago de Barret, gastritis, enfermedad ácido péptica, entre muchas otras que afectan a la secreción de ácido gástrico.

que refleja el tiempo requerido para generar nueva H⁺/K⁺ ATPasa.²

No todos estos fármacos alcanzan un efecto total con una sola dosis durante 24 horas. Esto, depende del tiempo medio de recuperación de la secreción ácida que es de 15 horas para el lansoprazol, de 28 horas para el omeprazol y de 46 horas para el pantoprazol.

2. MECANISMO DE ACCIÓN

Su mecanismo de acción se basa en el bloqueo irreversible de la ATPasa H⁺/K⁺, enzima encargada de transportar iones H⁺ desde el citoplasma de las células parietales gástricas al lumen del estómago a cambio de iones K⁺, en contra de gradiente, mediante la energía de procedente de la hidrólisis del ATP.

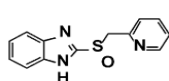
Cuando nos referimos a que es irreversible, hacemos referencia que anula la actividad de esta enzima. Sin embargo para el conjunto del sistema es un mecanismo reversible pues estas enzimas son degradadas y renovadas continuamente por el propio organismo.

Estos fármacos se administran inactivos, se tratan de profármacos, en su forma lipófila (carga neutra), pudiendo atravesar las membranas celulares. En el ambiente ácido de las células parietales gástricas, el fármaco se protona y se activa. Tras la activación, la molécula se unirá covalentemente a la bomba de protones, desactivándola.

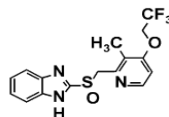
Los IBP son drogas que tardan en ejercer efecto su acción, tendiendo a 3 días hasta alcanzar la supresión máxima de ácido gástrico.

Por lo tanto, uno de los objetivos claros de la investigación es aumentar la vida media de estos fármacos y así

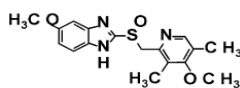
Benzimidazoles



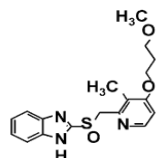
Timoprazole



Lansoprazole



Omeprazole



Rabeprazole

Fig. 1. Estructura de los bencimidazoles

El omeprazol, derivado del benzimidazol, fue el primer IBP aplicado clínicamente, después se desarrollaron otros benzimidazoles como el lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol.³

El omeprazol es un inhibidor irreversible de la bomba de protones que posee una vida media plasmática de 0.5 a 1 horas, aunque su tiempo de acción es de unas 24 horas, lo

inducir un bloqueo más prolongado de la enzima.

3. NUEVO IBP PROMETEDOR: TENATOPRAZOL

Se ha venido realizando ensayos con formas enantioméricas de los derivados bencimidazoles, puesto que estos se metabolizarían más lentamente (p.e. esomeprazol o S-omeprazol) por el organismo, alargando su acción farmacológica en el tiempo.

Además, se ha ensayado con un nuevo IBP en desarrollo como es el tenatoprazol (Fig. 4), derivado imidazopiridínico, que presenta una mayor vida media (7h), algo ventajoso frente a los IBP clásicos.⁶ (Fig. 3)

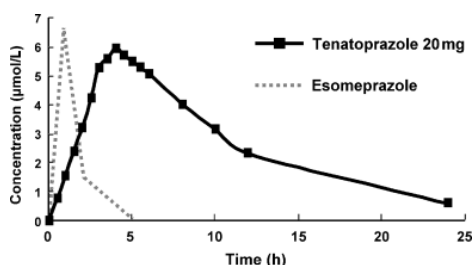
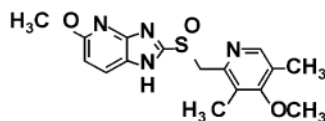


Fig. 3. Tiempo de residencia de IBP en sangre

El tenatoprazol fue descubierto por Mitsubishi Pharma (Japón). Su mecanismo de acción se asemeja al de los IBP convencionales, solo que establece una unión covalente con las cisteínas de la bomba de protones cuando está protonado. La estabilidad de esta inhibición y mayor vida media en el plasma se piensa que es lo que debe dar lugar a una inhibición más prolongada de la secreción en comparación con el omeprazol.

Imidazopyridine



Tenatoprazole

Fig. 4. Estructura del tenatoprazol

Se ha venido realizando ensayos con formas enantioméricas de los derivados bencimidazoles, puesto que estos se

metabolizarían más lentamente (p.e. esomeprazol o S-omeprazol) por el organismo, alargando su acción farmacológica en el tiempo.

Además, se ha ensayado con un nuevo IBP en desarrollo como es el tenatoprazol (Fig. 4), derivado imidazopiridínico, que presenta una mayor vida media (7h), algo ventajoso frente a los IBP clásicos.⁶ (Fig. 3)

El tenatoprazol fue descubierto por Mitsubishi Pharma (Japón). Su mecanismo de acción se asemeja al de los IBP convencionales, solo que establece una unión covalente con las cisteínas de la bomba de protones cuando está protonado. La estabilidad de esta inhibición y mayor vida media en el plasma se piensa que es lo que debe dar lugar a una inhibición más prolongada de la secreción en comparación con el omeprazol.

Se ha comprobado que la biodisponibilidad del tenatoprazol es dos veces mayor en su forma salina hidratada con sodio (S)-tenatoprazol en comparación con su forma libre debido a diferencias en la estructura salina y naturaleza hidrofóbica.

Recientes investigaciones tanto farmacodinámicas como farmacocinéticas en pacientes están corroborando una mayor efectividad de la subida del pH estomacal (mayor inhibición de la secreción de ácido HCl) y una acción de más extensión en el tiempo.⁷

5. CONCLUSIÓN

El tenatoprazol se plantea así como uno de los fármacos más efectivos en el control del pH intragástrico desde la aparición de los IBP bencimidazoles, uno de los llamados a sustituir a los convencionales, con una gran potencialidad de suplir las necesidades clínicas de las patologías relacionadas con el control de la secreción de ácido.

REFERENCIAS

- [1] . G. Sachs, J. M. Shin & C.W. Howden. Review article: the clinical pharmacology of proton pump inhibitor.2006
- [2] A. R. Gennaro. Farmacia. 2003
- [3] . G. Sachs, J. M. Shin & C.W. Howden. Review article: the clinical pharmacology of proton pump inhibitor.2006
- [4] . G. Sachs, J. M. Shin & C.W. Howden. Review article: the clinical

- cal pharmacology of proton pump inhibitor.2006
- [5] G. Sachs, J. M. Shin & C.W. Howden. Review article: the clinical pharmacology of proton pump inhibitor.2006
- [6] Hunt RH, Armstrong D, James C, *et al.* Effect on intragastric pH of a PPI with a prolonged plasma half-life: comparison between tenatoprazole and esomeprazole on the duration of acid suppression in healthy male volunteers. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:1949–56
- [7] Galmiche J, Bruley Des Varannes S, Ducrotté P, Sacher-Huvelin S, Vavasseur F, Taccoen A, Fiorentini P, Homerin M (2004). "Tenatoprazole, a novel proton pump inhibitor with a prolonged plasma half-life: effects on intragastric pH and comparison with esomeprazole in healthy volunteers.". *Aliment Pharmacol-Ther* **19** (6):655–62).



Pedro Jesús Murillo Martín.

Estudiante de 5º curso de Licenciatura en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Anorexia Nerviosa

Amanda Muñoz-Gutiérrez

Resumen— Las anorexia nerviosa constituye una de las enfermedades de base psicológicas más graves, según muestra su mayor tasa de mortalidad frente a otros trastornos. Se trata de una enfermedad multidisciplinar, dado que su tratamiento requiere de la intervención de integrantes de un equipo de salud mental, formado por psicólogos y psiquiatras, así como de internistas, ginecólogos, nutricionistas, traumatólogos, neurólogos, etc. La gravedad de la enfermedad depende del estadio en el que esta comience a ser tratada, siendo en algunos casos el daño causado irreparable, terminando en la muerte del paciente. Este trastorno de la conducta alimentaria constituye una manifestación de una falta autoestima, en algunos casos vinculada con factores familiares desfavorables, y en otros por motivos de rechazo social. Inicialmente se consideraba una enfermedad que afectaba principalmente a mujeres, pero cada vez son más los hombres que sufre de anorexia nerviosa.

Palabras Claves— Anorexia nerviosa, infrapeso, amenorrea, fobia, distorsión de la imagen corporal.

1. DESCRIPCIÓN

El término anorexia nerviosa (AN) hace referencia a un desorden de la conducta alimentaria, con un potente componente psicológico, cuyo resultado es la privación de alimentación o ayuno voluntario [2]. La Anorexia Nerviosa es una enfermedad psiquiátrica grave caracterizada por una extrema delgadez y miedo a la comida, distorsión de la imagen corporal, así como una gran rigidez conductual y perseverancia en la pérdida de peso [1]. La consecuencia directa de esta es una marcada malnutrición que provoca múltiples alteraciones endocrinas [2].

1.1. Criterios según DMS

Según la DSM los criterios para el diagnóstico de anorexia nerviosa son [1]:

- Restricción de la ingesta energética necesaria en relación a la edad, sexo y estado físico del paciente, como consecuencia del propio rechazo al mantenimiento de un peso mínimo que pueda considerarse normal para su edad y altura [1] (caracterizado por un índice de masa corporal inferior al 15%, siendo lo normal entre 20 y 25). El cálculo del índice de masa corporal (IMC) viene dado por la expresión: $IMC = \frac{Peso}{(Altura)^2}$
- Pánico a la ganancia de peso y continuación de conductas que impliquen pérdida del mismo, incluso al tratarse de pacientes en infrapeso [1].
- Distorsión de la imagen corporal, pese al infrapeso, y negación del problema [1].
- En mujeres en periodo fértil (postmenarquia) es característica en muchos casos la amenorrea o ausencia de menstruación durante un periodo de tiempo superior a los 3 meses, debido a las con-

diciones de ayuno y malnutrición [1].

Además en función de los comportamientos que se desarrollen durante el progreso de la enfermedad, podemos distinguir dos grados de anorexia diferentes, no siendo excluyente uno del otro, pudiéndose alternar en episodios diferentes [1] [2]:

-AN de tipo Restrictiva (ANR): durante el periodo que el paciente sufre un episodio de Anorexia se produce la supresión de ingesta calórica apropiada y realización de ejercicio físico intenso, con la finalidad de perder peso [1].

-AN de tipo Purgativa o Compensativa (ANP): presenta la sintomatología que la ANR pero el paciente lleva a cabo de forma habitual durante al menos tres meses comportamientos purgativos para compensar la ingesta de alimento, como la inducción del vómito o la ingesta de laxantes, diuréticos o enemas [2].

2. SINTOMATOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

Los principales síntomas que presenta un paciente con AN son [1]:

SOMÁTICOS	PSICOLÓGICOS
Extrema delgadez	Ansiedad
IMC≤15%	Insomnio
Bajo pulso	Fobia al incremento de peso

Tensión arterial baja	Distorsión de la imagen corporal
Amenorrea	Conducta obsesiva por el control del peso
Alteración generalizada de los ejes hormonales	Obsesión por el aporte calórico de los alimentos
Lanugo	Irritabilidad
Ojeras, palidez y debilidad	Depresión
Caída del cabello	Aislamiento sociofamiliar
Mareos	Ideas suicidas
Vómito espontáneo (en ANP)	Baja autoestima
Diarrea tras ingesta	Falta de concentración

En base a estos síntomas y a lo establecido por la DSM corresponde a un equipo médico formado por psicólogos, psiquiatras, nutricionistas, internistas, etc., el llevar a cabo la detección de esta alteración en un paciente que lo solicite.

3. CAUSAS

Existen estudios que determinan una mayor predisposición a padecer AN cuando existe en el entorno familiar algún antecedente de trastorno bipolar [4]. No obstante, la influencia social, desde la infancia del paciente, son de vital importancia para comprender el desarrollo de la enfermedad [4].

A nivel fisiológico, una desregulación en la función dopaminérgica son unas de las principales razones que explican las alteraciones afectivas y cognitivas que caracterizan a pacientes con anorexia nerviosa [3]. El fenotipo Val158Met de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) es particularmente interesante, debido a su papel central en el metabolismo de la dopamina (DA) en la corteza prefrontal (PFC) [3]. Se trata de una enzima S-adenosilmetionina dependiente de metiltransferasa que metila catecolaminas y estrógenos derivados de catecol. Se ha demostrado que rendimiento cognitivo prefrontal es más eficiente en individuos con el fenotipo Met158 del transportador respecto del Val158. El incremento de la actividad de COMT en transportadores con Valina limita la difusión de DA desde la sinapsis, favoreciendo la activación de receptores intrasinápticos. Esto desencadena en mayor capacidad de distracción y mayor rigidez a la hora de modificar conductas rutinarias que rozan la categoría de rituales. Esto explica las conductas tan rígidas en cuanto a la alimentación de pacientes con AN [3].

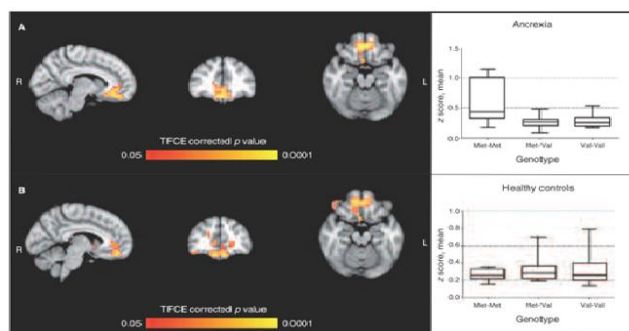


Figura 1 Angela Favaro y col. (2012)

En esta imagen se muestra la imagen de la actividad de la corteza prefrontal dorsolateral, ante el efecto del genotipo COMT en pacientes con AN y en controles sanos. En la gráfica se observa una diferente funcionalidad en los transportadores según el fenotipo que presenten, sobre todo en comparación con la respuesta de los controles.

4. DIANAS TERAPÉUTICAS

La AN clínicamente es tratada a diferentes niveles [1]:

- En primer lugar es necesario un proceso de renutrición del paciente, con el objetivo de normalizar sus constantes vitales y de incrementar su IMC. En función de cuáles sean dichas constantes puede realizarse por alimentación controlada voluntaria o por sonda nasogástrica.

- Junto con el incremento calórico de la dieta se pueden emplear fármacos que faciliten el tránsito intestinal, como motilium (Domperidona), con el objetivo de impedir dolores o molestias gástricas tras la ingesta de alimento y facilitar así la digestión.

- Al mismo tiempo, se emplean fármacos con actividad ansiolítica como Orfidal (Lorazepam), con el objetivo de minimizar el rechazo al incremento de peso.

- Otros fármacos que se emplean durante la renutrición son relajantes para favorecer el sueño y el descanso del paciente, al mismo tiempo que se reduce su estado de nerviosismo y ansiedad, como Myrtazapina.

- Una vez que el paciente ha normalizado sus constantes vitales se suelen administrar antidepresivos, al mismo tiempo que se retira el motilium, como es por ejemplo el Escitalopram.

Todo este proceso de rescate clínico del paciente es recomendable acompañarlo de terapia de grupo, para que el paciente pueda expresar sus emociones y su estado psicológico en un ambiente receptivo para ello, al mismo tiempo que puede aprender de experiencias de sus compañeros [1].

No obstante, es posible tras la recuperación del peso recomendado, según la altura y edad del paciente (ver IMC), es posible que algunos síntomas no hayan desaparecido, como es el caso de la amenorrea, dado que el eje

hormonal hipotálamo-hipófisis-ovario es el último en ajustarse fisiológicamente [1].

5. CONCLUSIÓN

Como se ha podido describir a lo largo de este trabajo, la Anorexia Nerviosa es una de las enfermedades mentales con mayor tasa de mortalidad, afectando cada vez más a jóvenes independientemente del sexo. Esto hace necesario el llevar a cabo campañas escolares para concienciar a generaciones futuras del verdadero peligro al que se exponen al dejar de llevar una alimentación equilibrada, así como de las nefastas consecuencias que puede tener esta enfermedad. Finalmente, decir que para paliar el intenso sufrimiento que casusa esta enfermedad tanto en enfermos como en sus familiares y seres queridos es necesario llevar a cabo una reforma social, en la que los cánones de belleza sean lo más saludables posible.

Agradecimientos

La autora desea agradecer al Departamento de Química de la Universidad Pablo Olavide por la oportunidad de poder presentar este documento en una revista de divulgación científica. En especial a Ana Paula Zaderenko, responsable de la asignatura, por la confianza depositada en sus alumnos.

REFERENCIAS

- [1] Manuel Föcker , Susanne Knoll, Johannes Hebebrand. Anorexia nervosa. Eur Child Adolesc Psychiatry DOI 10.1007/s00787-012-0358-6. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, published online 8 December 2012.
- [2] Madhusmita Misra, Anne Klibanski. The Neuroendocrine Basis of Anorexia Nervosa and Its Impact on Bone Metabolism. Neuroendocrinology 2011;93:65–73 DOI: 10.1159/000323771. Neuroendocrine Unit and Pediatric Endocrine Unit, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, Mass, USA.
- [3] Angela Favaro, MD, PhD; Maurizio Clementi, MD; Renzo Manara, MD; Romina Bosello, MD; Monica Forzan, PhD; Alice Bruson, PhD; Elena Tenconi, PhD; Daniela Degortes, MSc; Francesca Titton, MD; Francesco Di Salle, MD; Paolo Santonastaso, MD. Catechol-O-methyltransferase genotype modifies executive functioning and prefrontal functional connectivity in women with anorexia nervosa. J Psychiatry Neurosci 24- a2012. Submitted Mar. 31, 2012; Revised June 24, Aug. 18, 2012; Accepted Aug. 24, 2012. DOI: 10.1503/jpn.120068. Canadian Medical Association
- [4] Jennifer E. Wildes, Marsha D. Marcus, and Andrea Fagioli. Prevalence and correlates of eating disorder comorbidity in patients with bipolar disorder. NIH Public Access Author Manuscript Psychiatry Res. Author manuscript; available in PMC 2009 October 30.



Amanda Muñoz-Gutiérrez estudiante de 5º curso de la Licenciatura en Biotecnología, en la Universidad Pablo de Olavide. Actualmente es miembro del Área de inmunología del Centro Andaluz de Biología del Desarrollo en la Universidad Pablo de Olavide, en donde colabora como alumna interna. Su interés investigador incluye el análisis de expresión genética, la epigenética, el diagnóstico clínico de enfermedades y el diseño de terapias alternativas.

ALERGIAS: PRESENTE Y FUTURO

Myriam Gómez Llamas

Resumen—Las alergias suponen una enfermedad englobada dentro de las hipersensibilidades, en concreto de las de tipo I. Este nombre deriva de la repuesta excesiva del sistema inmunológico ante la presencia de un alérgeno. Las causas y consecuencias son muy variadas lo que lleva a disponer de una amplia variedad de tratamientos. Los avances en este campo se centran principalmente en la mejora los tratamientos tradicionales, en el diseño de fármacos que actúen sobre nuevas dianas (Omalizumab, Tosilato de Suplstat, Ciclesonide...) y en las perspectivas de futuro puesta en la farmacogenética.

Palabras Claves— Fisiopatología, tratamiento, inmunoterapia específica de alérgenos (SIT), hipolárgenos, farmacogenética.

1. INTRODUCCIÓN

Las alergias son reacciones de hipersensibilidad por parte de nuestro sistema inmunológico ante un agente normalmente inocuo. Se produce una respuesta excesiva e inapropiada que desemboca en elevadas concentraciones de Inmunoglobulina E y de eosinófilos circulantes.

Los principales alérgenos son: el ácaro del polvo, drogas, el polen, alimentos, aditivos, mohos, caspas de mascotas...

Las consecuencia de estos pueden ser muy variadas, desde erupción cutáneo, urticaria, hinchazón de ojos, mocos... hasta anafilaxis, asma

1.1 Fisiopatología de las respuestas alérgicas

En la primera etapa denominada etapa de sensibilización, las células presentadoras de antígenos muestran fragmentos del alérgeno a través de los MHCII (Complejos de Histocompatibilidad tipo II) a los linfocitos Th activándolos. Estos al ser activado producen varias tipos de interleucinas (entre ellas IL-3 e IL-4) que activan a los linfocitos B que una vez activados sufrirán un proceso de recombinación que les llevará a la producción de IgE. La IgE se une y fija a los receptores de membrana de los mastocitos.

La segunda etapa o etapa de activación, supone el segundo contacto del sistema inmunológico con el alérgeno. El alérgeno se une a la IgE fijada a la membrana de los mastocitos provocando su activación y desgranulación. Como consecuencia de las desgranulación se lleva a cabo la liberación tanto de mediadores preformados (histamina, elastasas, serotoninas y triptasas) como de Novo (leucotrienos, prostaglandinas y tromboxanos). Por último, en la tercera etapa o etapa tardía los compuestos liberados anteriormente actúan como mediadores químicos activando a las moléculas de adhesión (ICAM1, VCAM, RANTES...) que se encargarán de la migración y activación de otras células del Sistema Inmune al foco de infección (ver Figura 1).

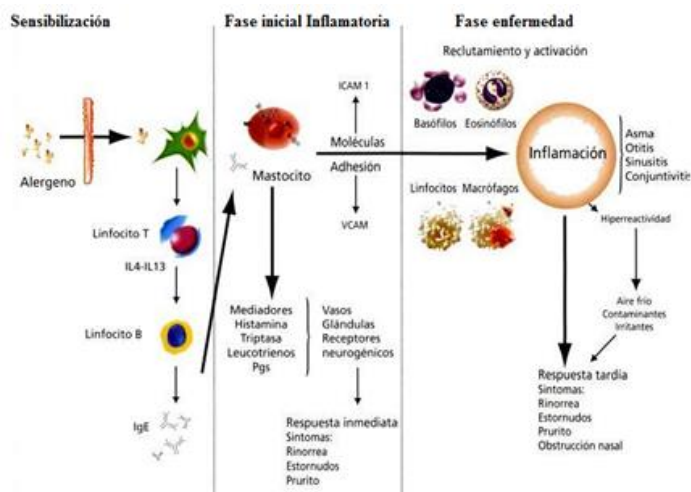


Fig. 1. Fisiopatología de la respuesta alérgica. ⁴

2. PERSPECTIVA DE FUTURO

Las alergias suponen una enfermedad autoinmune muy presente en la población mundial. De ahí que se conozca con mucha exactitud cómo actúa y con qué fármacos se puede paliar. Los fármacos que tradicionales se han usado para su tratamiento son antihistamínicos, descongestionantes corticoesteroides, broncodilatadores... Los nuevos tratamientos se basan en mejorar los fármacos existentes y en potenciar nuevas dianas sobre las que actuar de manera más eficaz.

2.1. Los Linfocitos Th como principal diana de acción

Los Linfocitos Th son los principales moduladores de la repuesta alérgica, en concreto lo Th2, de ahí que las nuevas terapias se centren en actuar sobre estos. A continuación se describen dos métodos de acción:

El primero de ellos es la inmunoterapia específica de alérgenos (SIT). SIT es el método más selectivo y eficaz; capaz de modificar el curso natural de la enfermedad.

En este tratamiento, el paciente es vacunado con dosis crecientes de extractos de alérgenos con el objetivo de obtener una tolerancia inmunológica de las células T periféricas. De esta manera no sólo se disminuye la respuesta inmune de los Th2 sino que además se modula la activación de mastocitos y su correspondiente liberación de Histamina, así como la activación de basófilos.

La principal desventaja de este método es el uso de extractos con alérgenos que pueden causar reacciones adversas graves. Por este motivo los avances se han centrado en dar solución a este problema mediante la creación de **vacunas recombinantes**.

Las **vacunas recombinantes** se desarrollan asilando el DNA que codifica para un alérgeno y recombinándolo de tal manera que se minimiza el espectro de epítomos de acción consiguiendo una mayor eficacia con menores efectos secundarios. El primer paso en la utilización de vacunas recombinantes fue la modificación de las vacunas tradicionales mediante la fusión del extracto de alérgeno con proteínas modulares antigénicas (adyuvantes). Esto aumentó la producción de anticuerpos específicos para una menor cantidad de extracto de alérgeno usado.

Un paso más son las vacunas desarrolladas a base de alérgenos hipoalergénicos. Los alérgenos hipoalergénicos por sí mismos no generarían una respuesta inmunológica pero mantendrían el epítipo de reconocimiento para los receptores IgE. Como ventaja, la pérdida de su forma nativa induce la inmunización específica por medio de anticuerpos IgG. La IgG al tener como diana el mismo epítipo que los IgE, solapa e inhibe la unión de IgE a los alérgenos. (Ver figura 2).

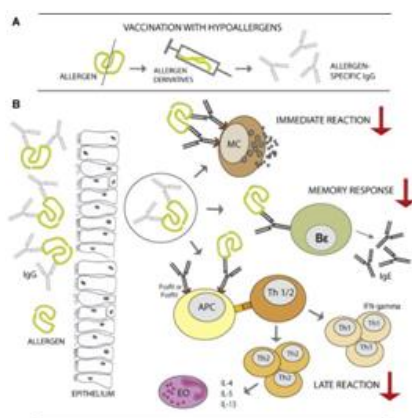


Fig.2.: Efecto terapéutico de la vacunación con hipoalérgenos. A: Acción de los Anticuerpos IgG que inhibe la unión de IgE al alérgeno. B: Efectos de la inhibición de la IgE: Bloqueo de la desgranulación de mastocitos, disminución de células de memoria B y disminución de la respuesta de las células T.²

La primera vacuna recombinante que se ha probado llevaba hipoalérgenos derivados del polen de las gramíneas Bet v 1. Se ha desarrollado in vitro, ha sido probada en animales y se encuentra en fase clínica en humanos donde los resultados obtenidos han demostrado una disminución en 100 veces de la respuesta inmunológica.

El segundo tratamiento que vamos a nombrar es el fármaco **Tosilato de Suplastat**. Este actúa modulando la liberación de IL-4 e IL-5 por parte de los Th. Al actuar sobre la liberación de citoquinas todo el proceso de activación de Linfocitos B y liberación de IgE se ve ralentizado lo que lleva a una reducción en la liberación de mediadores de la inflamación por parte de los eosinófilos.

2.2. Otras dianas de acción: IgE y mejoras de Fármacos existentes.

Junto con los linfocitos Th, la IgE supone una de las principales dianas de acción por su vinculación en la desgranulación de los mastocitos.

Recientemente se ha comercializado el fármaco **Omalizumab**; consistente en un anticuerpo monoclonal recombinante anti-IgE que se une a la región CH₃ de la IgE libre impidiendo que este se pueda unir a los monocitos tal y como se observa en la figura 3.

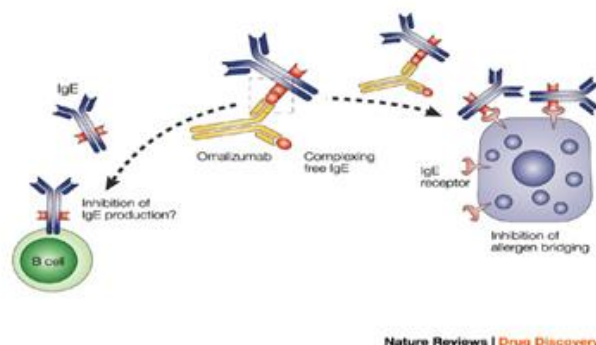


Fig.3: Mecanismo de acción de Omalizumab.³

Tan importante es buscar nuevas dianas como mejorar los fármacos existentes. Un ejemplo es un nuevo glucocorticoide, **Ciclesonide**, que reduce los efectos secundarios de los glucocorticoides inhalados. Esa disminución se debe principalmente a dos características: La primera de ellas es la baja afinidad que este fármaco presenta por los receptores β adrenérgicos garantizando una acción más eficaz. La segunda característica es la necesidad de ser hidrolizado por esterasas endógenas de

la vía aérea para formar el principio activo (desisobutil-ciclesonide).

2.3. Farmacogenética.

No todos los pacientes responden de igual forma ante un mismo tratamiento, es por ello por lo que las perspectivas de futuros se centran en el estudio de la farmacogenética.

La farmacogenética estudia la influencia de la variabilidad genética de un individuo en la respuesta a un determinado fármaco. Se estima que en torno al 70% de la respuesta ante un fármaco se debe a variabilidad genética. Los estudios más recientes llevan a pensar las alteraciones genéticas podrían afectar de tres formas distintas en la acción de un fármaco. Estas son: En el metabolismo del mismo, en la acción de estos sobre dianas no deseadas o en variaciones en las dianas terapéuticas.

Recuentes investigaciones llevan a sospechar que existe una cierta predisposición genética a padecer alergia mediada por múltiples genes. Dos de los locus candidatos se encuentran en el cromosoma 5q en una región que codifica para diversas citoquinas (IL-3, IL-5, IL-9, IL-13, IL-9, IL-13 y GM-CSF) y en el cromosoma 11q que codifica para la cadena beta del receptor de la IgE. Estas alteraciones genéticas podrían explicar el hecho de que una misma alergia, por ejemplo el asma, se trate con diferentes tratamientos para distintas personas.

Estudios basados en la farmacogenética en el asma han demostrado que existen tres agentes farmacológicos que pueden verse afectados: los receptores beta2-agonistas, los antagonistas de leucotrienos y los corticoides. En los tres casos las causas son polimorfismos, confirmando que el factor genético es influyente en la asimilación de un tratamiento.

3. CONCLUSIÓN

Las alergias suponen una enfermedad autoinmune muy común en la población. Es una enfermedad que cada vez afecta a más personas debido a todo el daño que sufre el medio ambiente por la contaminación. Es por ello por lo que se conoce mucho acerca de esta y de cómo tratarla. Además se investiga en las mejoras de sus tratamientos.

Se conoce que además del componente ambiental, las alergias tienen un fuerte componente genético causado principalmente por polimorfismos génicos. Estos no solo afectan al desarrollo de la enfermedad sino a la eficacia del tratamiento de la misma. Por ello las perspectivas de futuros se centran en la farmacogenómica que nos permitirá tratar de forma individualizada a los pacientes, suministrando determinados fármacos a aquellos sujetos

que se puedan beneficiar en mayor medida de los mismos y evitando también, la toxicidad en aquellos otros genéticamente predispuestos a ella, consiguiendo de esta manera mejores resultados globales.

REFERENCIAS

1. Joseph Huerta López - Julia I. Méndez de Inocencio. "Neumología pediátrica: Infección, alergia y enfermedad respiratoria en el niño". 2008
2. Birgit Linhart and Rudolf Valenta. "Mechanisms underlying allergy vaccination with recombinant hypoallergenic allergen derivatives". Volume 30, Issue 29, 19 June 2012, Pages 4328–4335.
3. Stephen T. Holgate & David Broide. "New targets for allergic rhinitis: a disease of civilization". *Nature Reviews Drug Discovery* 2, 903-915 (November 2003).
4. Carolina Cisneros Serrano, M^a Ángeles Ruiz Cobos, Julio Ancochea. "Perspectivas de futuro en el Tratamiento del Asma .Servicio de Neumología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.



Myriam Gómez Llamas. Estudiante de 5^o Licenciatura de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Sevilla

DIABETES MELLITUS: LA NUEVA EPIDEMIA DEL SIGLO XXI.

Marina Rebollo Amaya

Resumen— La diabetes mellitus (DM) es conjunto de trastornos metabólicos caracterizados por una elevada glucemia y de los que derivan serias complicaciones agudas y crónicas. Destaca el importante número y variedad de fármacos existentes para su tratamiento, aunque no son menos destacables los efectos secundarios que estos presentan. Afortunadamente, en los últimos años se están desarrollando nuevos tratamientos que intentan minimizarlos, como los relacionados con el efecto incretina: análogos de GLP-1 e inhibidores de la DPP-4.

Palabras Claves— Diabetes, hiperglucemia, resistencia a insulina, receptor SUR-1, incretinas.

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una alteración metabólica caracterizada por una elevada hiperglucemia y por complicaciones agudas y crónicas derivadas, que incrementan la morbilidad y mortalidad asociada a la enfermedad y reducen la calidad de vida del paciente. Podemos considerar la diabetes como la epidemia del siglo XXI, ya que su prevalencia está aumentando de forma alarmante en los últimos años y va a llegar a doblarse el número de casos para el 2025, alcanzándose la cifra de 300 millones de diabéticos.

2. TIPOS Y MECANISMO DE ACCIÓN

2.1. Tipos de Diabetes Mellitus

El denominador común en todos los tipos de diabetes mellitus es la hiperglucemia (cantidad excesiva de glucosa en la sangre). Puede deberse a una disminución en la producción de insulina por el páncreas, a una resistencia en las células del músculo y del tejido adiposo a la insulina o ambas.

Encontramos la **DM tipo 1**, que representa entre el 5-10% de los casos y cuya causa principal es una destrucción autoinmune de la masa de células beta pancreáticas, que son las células encargadas de la producción de insulina. Este tipo parece responder a una predisposición genética y a factores ambientales.

La **DM tipo 2** representa el 90-95% de los casos y aunque la predisposición genética sigue siendo fuerte, también influyen muchos factores externos como la nutrición (existe una relación entre la obesidad y la DM2) y la actividad física. Las principales causas son una resistencia de las células a la insulina, un fallo en la producción y secreción de esta hormona en las células beta o una producción de glucosa excesiva en el hígado. El problema inicial suele ser una resistencia de las células a la insulina, que genera

hiperglucemia ya que éstas no incorporan la glucosa presente en el plasma. Esto conduce a un aumento en la secreción de insulina en las células beta para compensar, produciéndose finalmente su agotamiento funcional y una nula producción de la hormona.

Otro tipo es la **DM gestacional**, que se inicia o detecta durante el embarazo. Tiene una prevalencia del 2-4% de los casos. Se inicia cuando la función hepática de la madre no es suficiente para contrarrestar la resistencia a la insulina producida por las hormonas segregadas por la placenta. Tiene serias repercusiones tanto para el feto, como para la propia madre.

2.2. Mecanismo de secreción y acción de la insulina.

La síntesis de insulina se ve estimulada por una concentración plasmática de glucosa mayor de 3.9 mmol/L. La glucosa entra dentro de las células beta mediante el transportador GLUT-2 y, una vez en el citosol, es fosforilada y metabolizada por la vía glucolítica para obtener ATP. El ATP inhibe un canal de K^+ formado por dos subunidades: la proteína que forma el canal kir6.2 y el receptor SUR-1, diana de algunos fármacos. La inhibición produce una despolarización de la membrana de la célula con la apertura de canales de Ca^{2+} y secreción de la insulina. (Fig. 1)

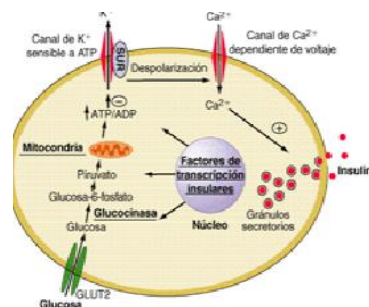


Fig. 1. Proceso de secreción de insulina en las células beta. Adaptado de Harrison's [1]

Cuando esta hormona se une a su receptor en la membrana de las células, se produce una autofosforilación de sus subunidades y se inicia una cascada de señalización interna que tiene diferentes funciones celulares, entre ellas la migración del transportador de glucosa GLUT-4 a la membrana para incorporarla a la célula.

La resistencia de las células a la insulina se produce cuando aparece una alteración en alguna de las etapas de síntesis, secreción o acción de la hormona sobre las células.

3. TRATAMIENTO DE LA DIABETES.

Además de la terapia nutricional y el ejercicio físico, es necesaria la administración de diferentes fármacos hipoglucemiantes:

- Fármacos estimuladores de la secreción de insulina (secretagogos de insulina): Los más importantes son las **sulfonilureas**, derivadas de las sulfonamidas, que poseen un anillo fenólico y diferentes sustituyentes (una cadena alifática o un grupo ciclohexílico) en ambos extremos. Aumentan la fase tardía de secreción de la insulina con un efecto prolongado. También dentro de los secretagogos se encuentra un derivado de la meglitinida, la **repaglinida**, que estimula una secreción rápida y corta de insulina. Lo mismo que ocurre con un derivado de la D-fenilalanina, la **nateglinida**.

El mecanismo de acción de los secretagogos consiste en unirse a la proteína **SUR-1**, que forma parte del canal de K^+ de la membrana de las células beta. Dicha unión produce la inhibición del canal y la consiguiente secreción de insulina. Los efectos secundarios principales de estos fármacos son un alto riesgo de hipoglucemia y un gran aumento de peso.

- Fármacos sensibilizadores de la acción de la insulina: Disminuyen la resistencia de las células a la hormona. Existen dos tipos destacados:

La **metformina** posee un núcleo de guanidina polar muy básico y una cadena hidrocarbonada lateral corta y apolar. Su mecanismo de acción no es del todo conocido, pero se sabe que disminuye la gluconeogénesis hepática, aumenta la translocación del transportador de glucosa GLUT-4 y estimula la afinidad del receptor de la insulina por su ligando. Los efectos secundarios más frecuentes son problemas digestivos.

Las **glitazonas** poseen una estructura tiazolidine-2-4 dióxido. En cuanto al mecanismo de acción, actúan como agonistas de los receptores nucleares PPAR- γ , que al activarse estimulan la expresión de genes codificantes para los transportadores de glucosa GLUT-4 y GLUT-1. Los efectos secundarios que presentan incluyen aumento de peso, edemas, etc.

- Inhibidores de las α -glucosidasas: Destacan acarbosa y miglitol. Ralentizan la absorción de los carbohidratos en el intestino mediante la inhibición competitiva y reversible de dichas enzimas, implicadas en la rotura de hidratos

de carbono. Son los menos empleados y sus efectos secundarios son problemas gastrointestinales.

-Insulinoterapia: Empleada en pacientes con DM1 y en algunos casos de DM2. Se utiliza insulina exógena obtenida mediante ingeniería genética. En función de las modificaciones en la secuencia aminoacídica que presentan estos análogos, van a absorberse más **rápido** (aspart, lispro) o más **lento** (glargina, detemir). Los efectos secundarios son un alto riesgo de hipoglucemia y aumento de peso.

4. PERSPECTIVAS DE FUTURO Y NUEVOS FÁRMACOS.

Para evitar la aparición de los efectos secundarios, principalmente hipoglucemia, se están planteando nuevas alternativas. Actualmente, la que experimenta un mayor auge es el uso de fármacos relacionados con el **efecto incretina**, que consiste en un aumento de la secreción de insulina pancreática mediada por hormonas (GIP y GLP-1) liberadas en el intestino tras la administración oral de glucosa. Las incretinas actúan sobre las células beta, aumentando la secreción de insulina, y sobre las células alfa, disminuyendo la de glucagón. Como GLP-1 se metaboliza demasiado rápido por la enzima dipeptidilpeptidasa 4 (DPP-4), se usan fármacos **análogos de GLP-1** que no son degradados por la enzima (ej. exenatida) o **inhibidores de la DPP-4** (ej. saxagliptina) para que no degrade el GLP-1 endógeno.

Las ventajas de los nuevos fármacos frente a los tradicionales son la regulación simultánea de la secreción de insulina y glucagón, una mejora en la masa y función de las células beta, un mínimo riesgo de hipoglucemia y una disminución del peso.

Respecto a otras perspectivas futuras de la diabetes, se está buscando una cura para DM1 mediante el trasplante de páncreas, de islotes o de células madre que sean capaces de transformarse en células productoras de insulina o que regeneren la masa de células beta atacada por el sistema inmune.

De momento, todas las miradas están puestas en el trasplante de islotes que es más sencillo que el del órgano completo. Sin embargo, los resultados no son tan positivos como se esperaba ya que los pacientes continúan con inmunosupresión de por vida. De hecho, sigue siendo una técnica experimental.

Por otro lado, la utilización de células madre hematopoyéticas o de tejido adulto ofrecería la posibilidad de regenerar la masa de células beta que está siendo destruida.

Aunque todavía queda mucho camino por recorrer hasta que este tratamiento se convierta en una cura real de la DM1.

AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecer a su familia y amigos.

REFERENCIAS

- [1] Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson and Isselbacher. Harrison's Principles of Internal Medicine. Ed. Mcgraw-hill 18th 2011.
- [2] Campuzano-Maya G, Latorre-Sierra G. Medicina & Laboratorio, Volumen 6, Números 5-6, 2010.
- [3] Albarrán J. Endocrinología Actualización Sección IX Diabetes Mellitus. Ed. Medica Panamericana 2^ª 2010.



Marina Rebollo Amaya, estudiante de quinto curso de la Licenciatura de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, de Sevilla. Alumna interna del departamento de biología molecular e ingeniería bioquímica.

NUEVAS ESTRATEGIAS EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C: ¿ATACAR AL VIRUS O AL HUÉSPED?

Marina Villanueva Paz

Resumen—La hepatitis C es una enfermedad crónica grave cuyo tratamiento en la actualidad no consigue los resultados deseados, debido a la gran variabilidad del virus de la hepatitis C, que posee una alta tasa de mutación y muchos genotipos diferentes. Sin embargo, gracias a la aparición de nuevos modelos para el estudio de la estructura y ciclo infectivo del virus, han surgido nuevas dianas para el desarrollo de fármacos: dianas virales, pero también celulares (proteínas del propio huésped). Estos nuevos fármacos, en fase de investigación, serán el tratamiento estándar en unos pocos años, dando esperanza a pacientes que no responden a los antivirales de uso general.

Palabras Claves— Hepatitis C, proteínas virales, DAAs, dianas celulares, anticuerpos.

1. INTRODUCCIÓN

La hepatitis C es una enfermedad que afecta principalmente al hígado, sufrida por más de 170 millones de personas en todo el mundo¹. Es causada por la infección persistente del virus de la hepatitis C (HCV), cuyo tropismo es selectivo hacia los hepatocitos de humanos y chimpancés. La infección aguda se convierte en una enfermedad crónica si el individuo no es capaz de eliminar el virus de su sistema en el plazo de seis meses tras la exposición sin ningún tipo de intervención terapéutica, por lo que el 50-80% de los infectados desarrollan la enfermedad crónica, que eventualmente da lugar a una cirrosis y un hepatocarcinoma celular [1], [2].

Por ello, la comunidad científica está realizando grandes esfuerzos para encontrar un tratamiento eficaz para esta enfermedad. Sin embargo, el gran reto que presenta el HCV es que es un virus cambiante, por lo que existe una gran variedad de genotipos distintos y cuasiespecies. Además, hasta hace poco tiempo no se había dilucidado su estructura y proteínas, por lo que las terapias que se han venido utilizando han consistido en antivirales de uso general, y no específico para el HCV.

La terapia antiviral actual estándar se basa en la combinación de interferón α unido a polietilenglicol y ribavirina [3]. Es un tratamiento de carácter general, no actúa específicamente contra el virus de la hepatitis C, y mucho menos es específico para distintos genotipos, por lo que la eficacia del tratamiento es baja y varía según los pacientes. Por ello, era necesario un tratamiento específico contra el HCV, basado en drogas que afecten a dianas del virus [1]. Estos medicamentos son los llamados DAAs (*Direct Acting Antivirals*), los nuevos tratamientos estándar desde 2011.

2. ATACANDO AL VIRUS: DESARROLLO DE DAAs.

Hasta hace poco tiempo, la falta de un cultivo celular *in vitro* para la replicación de HCV ha sido un problema para el desarrollo de terapias antivirales directas. Gracias a los avances en los cultivos celulares *in vitro* y al conocimiento cada vez mayor de la estructura del virus, han surgido los DAAs: medicamentos cuya diana es alguna proteína del virus de la hepatitis C, necesaria para su replicación o ciclo de vida. La aparición de los DAAs va a permitir que el tratamiento para el HCV se base en cócteles de medicamentos que eviten el escape del virus del sistema inmune, que sean capaces de acabar con las cepas resistentes y que mejoren la seguridad y la tolerabilidad.

Las proteínas del HCV con actividades enzimáticas han sido las primeras en ser dianas para el desarrollo de medicamentos antivirales. De hecho, los DAAs más importantes son los inhibidores reversibles de la proteasa NS3/4A, que posee un papel central en la maduración y replicación del virus. La comercialización de Telaprevir (Incivo™) y Boceprevir (Victrelis™) se permite desde 2011 con el objetivo de que su combinación con el PEG-Interferón y la Ribavirina se convierta en la nueva terapia estándar para el tratamiento de la hepatitis C. Esta triple terapia, que se administra de forma oral, consigue que el 70%-80% de los pacientes tratados vean disminuida la cantidad de virus en sangre tras unos meses de tratamiento [2], [4].

Sin embargo, estos tratamientos aún no solventan el problema de la variabilidad del virus, poseen efectos secundarios graves y un elevado coste.

3. ATACANDO AL HUÉSPED: DIANAS CELULARES.

Aunque los DAAs se han convertido en la terapia estándar a corto plazo, se cree que sólo lo serán durante un corto período de tiempo, ya que los últimos enfoques

propuestos para paliar la enfermedad consisten en el diseño de medicamentos cuyas dianas sean componentes del huésped necesarios para las distintas fases del ciclo de vida del virus. Las distintas dianas para el tratamiento de la hepatitis C estudiadas se esquematizan en la figura 1.

Estos tratamientos, por tanto, serán válidos para cualquier genotipo del virus y tendrán una acción muy potente, debido a que bloquean componentes esenciales sin los cuales la infección no puede progresar. Se tienen muchas esperanzas en estas investigaciones, ya que solventarían el problema de la variabilidad viral. Sin embargo, todas estas sustancias están en fase de investigación, por lo que se tendrá que esperar para verlas en el mercado. El problema de estas terapias es que pueden interferir en la función natural de las proteínas del huésped y producir efectos indeseados [5].

Se suelen dividir las dianas del huésped según la fase del ciclo infeccioso del virus en la que participan:

3.1. Dianas celulares que participan en la entrada del HCV.

La entrada del HCV en el hepatocito es un proceso muy coordinado que requiere múltiples factores del huésped. CD81, SR-BI (moléculas de membrana del hepatocito) y proteínas de las *tight-junctions* como Claudina-1 (CLD-1) y Ocludina actúan después de la unión del virus a la célula y son esenciales para la entrada del virus [5]. Se ha observado que el bloqueo de estas proteínas con anticuerpos monoclonales impide la entrada del HCV en el hepatocito *in vivo* e *in vitro*. Dichos anticuerpos se pueden desarrollar a partir del hígado de pacientes trasplantados⁴. Una molécula pequeña antagonista de SR-BI, IITX 5061, es el inhibidor de la entrada de HCV más avanzado en los ensayos clínicos, ya que puede ser un medicamento más barato que los anticuerpos [1].

Además, se han identificado recientemente otras proteínas que participan en la entrada del HCV, permitiendo que el complejo receptor de HCV pueda internalizar el virus mediante las *tight-junctions* celulares, y así el virus entra en el hepatocito mediante una endocitosis mediada por clatrina. Ya existen moléculas con licencia inhibidores de EGFR (Erlotinib), de EphA2 (Dasatinib) y de NPC1L1 (Ezetimibe), que inhiben la entrada del HCV *in vitro* [1], [4].

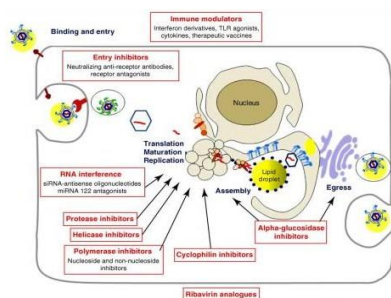


Figura 1: Diferentes estrategias y dianas para los nuevos tratamientos de la hepatitis C [6].

3.2. Dianas celulares que participan en la replicación y traducción del HCV.

Existen muchos factores celulares que realizan una función importante en la replicación del virus. Uno de los más estudiados es el miRNA-122 (microARN específico del hígado), que regula la biosíntesis de colesterol e interacciona con el 5' UTR del HCV protegiéndolo frente a la degradación y de la respuesta inmune. Miravisen, en fase II de ensayo clínico, consiste en un ácido nucleico modificado complementario al extremo 5' del miRNA122. Ha sido administrado a chimpancés con infección crónica y consigue una supresión larga de la viremia sin evidencias de resistencia viral ni efectos secundarios. Además, es capaz de actuar contra múltiples tipos de genoma de HCV *in vitro*, por lo que es una gran promesa en la actualidad [1], [4].

Los inhibidores más avanzados en el campo de la replicación del virus son aquellos que inhiben la ciclofilina A (CypA), una chaperona celular que interviene en el plegamiento proteico y tráfico de proteínas y que tiene un papel fundamental en la replicación de HCV y en la producción de partículas víricas. El inhibidor original de CypA era la ciclosporina A, una droga inmunosupresora usada en trasplante de órganos. Modificaciones químicas de la ciclosporina A resultaron en análogos no inmunosupresores, que eran capaces de inhibir la replicación del HCV *in vitro*, como el Alisporvir, que está en fase III de ensayo clínico y que es capaz de actuar contra una gran cantidad de genotipos del HCV, evita que el virus mute para ser resistente a otras drogas y tiene pocos efectos secundarios [2], [4].

Aunque han sido menos estudiadas, también son importantes las dianas celulares que participan en el ensamblaje del virus. Un ejemplo muy curioso es el flavonoide naringenina, presente en los cítricos, que inhibe la secreción de VLDL *in vitro* e *in vivo* y puede inhibir la liberación de HCV en un cultivo celular *in vitro*, por lo que puede desarrollarse como tratamiento [4].

4. CONCLUSIONES

Los nuevos estudios de la estructura molecular de las proteínas del virus HCV ha permitido un cambio en el tratamiento estándar para la hepatitis C que supondrá un aumento en la tasa de curación. Sin embargo, la solución de la hepatitis C crónica en un futuro pasará por la utilización de medicamentos que ataquen dianas del propio huésped, aunque esto resulte paradójico, ya que los nuevos tratamientos podrán ser utilizados para cualquier genotipo del virus y no implicarán el desarrollo de fenómenos de resistencia.

REFERENCIAS

[1] Pawlotsky, Jean-Michel. "Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease". *Trends in Microbiology* (2004). Vol.12: 96-102.

- [2] Aman et al. "Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C". *Virology Journal* (2012), 9:57.
- [3] Dae Won Jun et al. "Recent trends in the treatment of chronic hepatitis C". *The Korean Journal of Hepatology* (2012). Vol.18: 22-28.
- [4] Ploss, Alexander y Dubuisson, Jean. "New advances in the molecular biology of hepatitis C virus infection: towards the identification of new treatment targets". *Gut* (2012). Vol. 61: 25-35.
- [5] Zeisel, Mirjam B. et al. "Hepatitis C virus entry into hepatocytes: Molecular mechanisms and targets for antiviral therapies". *Journal of Hepatology* (2011) Vol. 54:566-576.
- [6] Georgel, Philippe et al. "Virus-host interactions in hepatitis C virus infection: implications for molecular pathogenesis and antiviral strategies". *Trends in Molecular Medicine* (2010). Vol.16: 277-286.



Marina Villanueva Paz es estudiante de quinto curso de Licenciatura en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, Sevilla.

El Fenómeno de Raynaud

Jesica Victorino Santos, Jesús Victorino Santos

Resumen—El fenómeno Raynaud consiste en un agravamiento de la acción normal de constricción de los vasos sanguíneos en las zonas más distales del organismo (dedos, nariz, oreja) provocando en ellas una decoloración de la piel, muy significativa de este fenómeno, observándose desde palidez, cianosis, a rubor. Y en los peores de los casos, pudiendo llegar a ocasionar lesiones importantes, provocada por una isquemia mantenida y por la hipoxia. Se diferencian dos tipos de fenómenos, el que se desarrolla por alguna otra afección previa, y el de etiología idiopática. Aunque no son los únicos, si es cierto que dos de los desencadenantes que más favorecen este fenómeno son la exposición al frío y el estrés.

Palabras Claves— Fenómeno Raynaud, síndrome Raynaud, vasoespasmos digitales, lesiones digitales, exposición frío.

1. FENÓMENO RAYNAUD

Recibe este nombre por quien describió por primera vez este fenómeno, Maurice Raynaud, un médico francés, en 1862 [3]. Este fenómeno, es una afección que consiste en la aparición de espasmos vasculares (vasoespasmos), agudos, intermitentes y transitorios, que consiguen bloquear el flujo sanguíneo de las zonas acras o distales del organismo (dedos de las manos y pies, orejas, nariz, incluso pezones), produciendo en estas zonas una decoloración cutánea, acompañado de dolor, entumecimiento, y disestesia (perdidas de sensibilidad). El frío y el estrés o emociones fuertes, son los desencadenantes que más potencian este fenómeno [1], [2].

1.1. Síntomas

Se pueden observar 3 tipos o fases de cambios de coloración en la piel, conforme se produce primeramente el espasmo, hasta que de nuevo se instaura el riego sanguíneo [4], [5]:

-Palidez, acompañado de frialdad y parestesia (sensación de hormigueo), producido por los episodios vasoespásticos.

-Cianosis, de color azul, al comenzar los vasos sanguíneos a dilatarse, llenándose primeramente de sangre poco oxigenada (hipoxia) debido a la oclusión. También se puede presentar dolor por este lento flujo de sangre.

-Rubor, producido por la hiperemia reactiva (el aumento del flujo sanguíneo por las arteriolas). La piel se torna muy enrojecida, con sensación de hormigueo, palpitaciones, y sensación de calor.

Generalmente aparecen estas 3 fases, aunque hay otras veces que puede faltar una de ellas [2]. Las zonas que más frecuentemente se ven afectadas, son los dedos de las manos y los pies. La afectación puede ser asimétrica y no aparecer en todos los dedos.



Fig.1. Decoloración digital.

(a) y (c): Fase de palidez digital producida por constricción vascular.
(b) y (d): Dedos cianóticos por falta de oxígeno (hipoxia).

Fuente: wikipedia.org

1.2. Etiología posible

El fenómeno de Raynaud puede ser producido por alguna otra afección, llamándose en este caso Síndrome de Raynaud (o fenómeno de Raynaud secundario). Y en otros casos se le denomina enfermedad de Raynaud (o fenómeno de Raynaud primario), cuando se desconoce la causa de los signos y síntomas [3].

- La enfermedad de Raynaud se diagnostica si los síntomas se producen por sí mismos y no en asociación o inducido por otra causa (idiopático) [4]. Este trastorno, de causa desconocida, se manifiesta ante la exposición del frío, el agua fría, y/o las emociones fuertes [5]. Esta exposición provoca la acción contráctil de los capilares arteriolas [4], que en el caso de Raynaud, básicamente es una respuesta exagerada de la acción normal que los vasos producen al contraerse. Y con este inicio de la crisis, se dan lugar los síntomas mencionados antes.
- 2. Como hemos dicho antes, el Síndrome de Raynaud, es secundario a alguna otra afección que lo provoca. Estas causas son muy numerosas pero podríamos destacar [4]:
 - a) Enfermedades vasculares: arterioesclerosis, enfermedad de Buerger, arteritis de Takayusa.
 - b) Trastorno del tejido conectivo: esclerodermia, LES (lupus eritematoso sistémico), artritis, el síndrome de Sjogren.
 - c) Fármacos: algunos betabloqueantes, anfetaminas,

citotóxicos, vacunas para el ántrax.

- d) Otros como eritromelalgia, hipotiroidismo, síndrome del túnel carpiano, deficiencia de magnesio, traumatismo, crioglobulemia, quemadura por frío, tabaquismo, etc.

Las manifestaciones del síndrome son las mismas que las que se pueden observar en el fenómeno primario. Incluso en esta forma secundaria, pueden aparecer casos más graves, observándose lesiones en la piel [4]. Esta hiperactivación del sistema simpático, que es lo que provoca una vasoconstricción extrema, puede llevar a una hipoxia tisular, presentando desde uñas quebradizas longitudinalmente, atrofia de la piel, del músculo, hasta, en los casos extremos, necrosis, gangrena o ulceración de la piel (esto último, es poco frecuente) [3], [4].

La prevalencia del fenómeno Raynaud, no supera el 10% de la población general [1] y sobretodo afecta a las mujeres [5].

1.3. Pruebas diagnósticas

Es muy importante diferenciar si el fenómeno de Raynaud es primario o secundario. Para ello el médico podrá realizar distintas pruebas para identificar o excluir posibles causas secundarias que pudieran estar originándolo (como artritis, vasculitis, etc). Para un buen diagnóstico hay que hacer una buena recogida de datos del paciente, interrogándole sobre sus síntomas y haciéndole un reconocimiento completo [1], [2]:

- Hemograma completo, que podría revelar alguna otra causa
- Examinar la vasculatura del pliegue ungüeal, por capilaroscopia
- Pruebas inmunológicas, para ver si hay algún tipo de proceso inflamatorio
- Ecografía Doppler, para ver la forma en que se desplaza la sangre a través de los vasos sanguíneos.
- Examen de estimulación al frío, se utiliza para medir la temperatura de todos los dedos de la mano después de sumergirlo en un baño de agua helada. Generalmente la temperatura de los dedos vuelve a ser normal a los 15 minutos después de la exposición.
- Medición de la presión arterial de los dedos antes y después de que las manos se hayan enfriado. Cuando la presión al menos desciende los 15 mmHg, es diagnosticada la enfermedad.
- Realizar la maniobra de Allen para objetivar el fenómeno de Raynaud secundario.

1.4. Tratamiento

El tratamiento para la enfermedad, principalmente se basará en evitar las exposiciones o desencadenantes de los síntomas. Y el fenómeno de Raynaud secundario, se trata intentando resolver la causa o enfermedad que hay detrás de ello (por ejemplo cirugía, para resolver el síndrome del túnel carpiano), además de evitar todas las opciones que provocan al fenómeno Raynaud primario

[3].

Como cuidados generales podrían tomarse [2], [5]:

- Protección del frío usando guantes, calentadores de manos y pies, calcetines de lana, evitar lavarse las manos con agua fría, etc, incluso tener prendas térmicas para situaciones de emergencias.
- Evitar la cafeína y el consumo del tabaco
- Evitar el consumo de medicamentos que provoquen estos vasoespasmos, como algunos medicamentos reguladores de hormonas (por ejemplo, la píldora anticonceptiva).
- Utilizar las técnicas biofeedback, que ayuda a enseñar a controlar el estrés

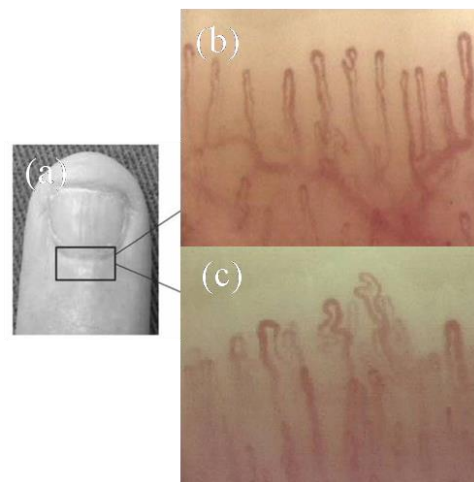


Fig.2. Capilaroscopia.

Imagen en la que se muestra la zona periungüeal (a) y el resultado de dos capilaroscopias en dicha zona (b y c). En (b) podemos observar la distribución normal de los capilares en un paciente sano. En (c) podemos observar una capilaroscopia patológica con capilares tortuosos.

Fuentes:

Rev. Médica del Uruguay (www.scielo.edu.uy)
Reumatología Argentina (www.reumar.com)

Generalmente las personas que presentan la enfermedad, como dijimos antes, no requieren tratamiento médico, y con que lleven a cabo estos consejos anteriores, pueden ser suficientes, en cambio, en el síndrome, al tener mayor riesgo de lesiones cutáneas, y una sintomatología activa durante todo el año, puede ser recomendable tomar medicamentos (dirigidos a modificar la vasoconstricción reversible) como antagonistas del calcio, inhibidores del sistema nervioso simpático, inhibidores de la serotonina, y en los casos más graves, donde otras medidas no dan resultados, se ha llegado a utilizar la simpatectomía. De cualquier caso, se hace hincapié en conocer la etiología

del fenómeno, además de los síntomas y lesiones que presenta, para indicar el tratamiento más adecuado. Los nuevos avances en la fisiopatología, están llevando a novedosos enfoques de tratamiento.

Referencias

- [1] Nitsche, A. (2012) "Raynaud, digital ulcers and calcinosis in scleroderma". Reumatol Clin.-Vol 08, núm 05: 207-7.
- [2] García-Carrasco, M., Sisó, A., Ramos-Casals, M., Cervera, R., Font, J. (2000) "El tratamiento del fenómeno Raynaud". Rev Esp Reumatol. Vol.27 núm 7, pág:322-7.
- [3] [Baumhäkel, M.](#), [Böhm, M.](#) (2010). "Recent achievements in the management of Raynaud's phenomenon". Vasc Health Risk Manag. Vol.6, pág:207-14.
- [4] [Sunderkötter, C.](#), [Riemekasten, G.](#) (2006)" Pathophysiology and clinical consequences of Raynaud's phenomenon related to systemic sclerosis". Rheumatology (Oxford). 45 suppl. 3: iii33-5.
- [5] Herrick, A.L., (2005). "Pathogenesis of Raynaud's phenomenon". Rheumatology (Oxford). Vol.44: 587-96.



Jesica Victorino Santos recibió el título de Diplomada en Enfermería en el año 2007 por la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud. Con algunos años de experiencias en distintos hospitales y diversos cursos de formación continuada y experto universitario relacionado con su carrera.



Jesús Victorino Santos estudiante de 3º Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Diagnósticos y nuevos enfoque en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa

José María Guerrero Aranda, Emilio José Mejías Arriaza, Jesica Victorino Santos

Resumen—La intolerancia a la lactosa se produce cuando la enzima lactasa es insuficiente para digerir de forma adecuada la lactosa, y se desencadena una serie de síntomas. Es importante hacer un buen diagnóstico para poder disminuir lo antes posibles los síntomas que esta patología produce. La restricción de los productos lácteos puede provocar serios problemas de salud. Desde hace unos años se están estudiando otras alternativas para un mejor tratamiento.

Palabras Claves— Intolerancia a la lactosa, Probióticos, Diagnóstico, Hipolactasia, Prebióticos.



1. INTRODUCCIÓN

Cuando la cantidad de la enzima lactasa, es insuficiente para poder digerir de forma correcta, una determinada cantidad de lactosa, es cuando tiene lugar la intolerancia a la lactosa (I.L.), desencadenándose una serie de síntomas característicos (deposiciones ácidas, flatulencia, distensión y dolor abdominal, heces pastosas, irritación perianal, pérdida de peso, etc.) [2].

La lactasa, creada en las microvellosidades del intestino delgado, digiere a la lactosa, en glucosa y galactosa, para así poder ser asimiladas por el organismo. La lactosa que no fue digerida por la deficiencia de lactasa, pasa al intestino grueso, donde es fermentada por las bacterias de este, produciendo numerosos gases y manifestándose todos síntomas mencionados anteriormente.

Conocemos que hay 3 tipos de déficit de lactasa [2], [3]:

1. De origen primario: heredado genéticamente, y en el que se produce la pérdida a lo largo de los años y de forma gradual, de la enzima lactasa, a partir del destete (entre 3-5 años de edad). Este déficit también es conocido como hipolactasia.

2. Déficit congénito: se manifiesta desde el nacimiento, mediante alactasia (carencia de lactasa). Es una entidad muy poco frecuente y que puede poner en peligro la vida del niño.

Estos dos tipos de déficit de lactasa, están muy ligados al pueblo étnico del que se proceda.

3. Déficit secundario de lactasa: se produce previo a un daño intestinal que se haya producido por alguna situación determinada o patología, como pueden ser las enfermedades crónicas del intestino, intervenciones quirúrgicas del intestino, etc. Es transitoria, y reversible.

Se estima que alrededor del 70% de la población mundial tiene deficiencia primaria de lactasa [2], aunque el hecho de que se manifieste los síntomas (I.L.), varía en relación a la raza, la edad y costumbres dietéticas [3].

Diversos estudios han evidenciado la existencia de una

mutación en el gen de la lactasa [3], asociado a la persistencia de la actividad de la lactasa, denominando a este hecho como lactasa persistente. A la ausencia de esta mutación, que es la más común, se le conoce como lactasa no persistente, y es la que termina dando lugar a la hipolactasia.

2. PRUEBAS DIAGNOSTICAS

Muchos de los síntomas que se presentan en esta patología, se dan también en otros procesos intestinales inflamatorios, por lo que es muy importante su diagnóstico, para poder tratarla lo antes posible. Las pruebas que más se utilizan son las siguientes:

2.1. Prueba del hidrógeno:

Los azúcares que llegan al intestino, son fermentados por la microflora del colon. En esa descomposición se producen distintos gases, entre ellos el hidrógeno, el cual, parte de él, es expulsado al exterior a través de los pulmones.

Por tanto, la lactasa no digerida previamente, es fermentada por esta flora, aumentando la cantidad de gases, y por consiguiente de hidrogeno. Esto es lo que se pretende observar en la prueba de hidrógeno.

Hay factores que pueden influir en los resultados de esta prueba, y por tanto llevar a una interpretación errónea de los resultados. Para evitarlos, antes de realizar la prueba se debe seguir una serie de recomendaciones, como no tomar antibióticos 2 semanas antes, no utilizar medicamentos que modifiquen el bolo fecal como los laxantes al menos 1 semana antes, seguir unas pautas dietéticas (como reducir al mínimo el consumo de productos lácteos unos 7-10 antes), así como no fumar, beber alcohol, o realizar ejercicio 12 horas antes. El incumplimiento de ello, podría desencadenar en falsos positivos o negativos.

La prueba: primeramente se toma una muestra basal, la cual debe estar por debajo de 10 ppm (parte por millón) de hidrogeno. Si estuviera por encima, podría ser por una incorrecta preparación del paciente o por un sobrecrecimiento bacteriano, que en el caso de sospecha de este último supuesto, se haría una prueba de sobrecrecimiento bacteriano, en vez de la prueba con lactosa.

Se da una carga de lactosa, 1g/kg de peso, hasta un máximo de 25 gramos, en 250 ml de agua. Se irá tomando muestras de aire espirado, cada 30 minutos desde el momento en que se toma la lactosa, y a lo largo de unas 3 horas (algunos laboratorios lo amplían hasta 6 horas).

Interpretación: Si durante todo el tiempo de la prueba, el hidrógeno se mantiene por debajo de 10 ppm, se considera que la malabsorción de lactosa es negativa o normal, y positiva o anormal cuando al menos alcanza los 10 ppm.

Esta prueba es una de las más utilizadas por ser una prueba no-invasiva y cuyos resultados son muy fiables si el paciente se ajusta correctamente al protocolo previo a la prueba [2], [3].

2.2. Test de tolerancia a la lactosa:

Esta prueba indica de forma indirecta la capacidad que tiene la persona de absorción de la misma. Se da una carga oral de lactosa (2g/kg con un máximo de 50g) y se toma como referencia la respuesta glucémica en sangre. Se realiza una venopunción basal y tras tomarse la carga de lactosa se realizan dos venopunciones más (una a los 60 minutos de haber ingerido la carga oral, y la última a los 120 minutos).

Si la persona absorbe correctamente la lactosa (que indicaría que hay suficiente enzima lactasa que produce su hidrólisis), los niveles de glucosa en sangre aumentarán al menos 20-26 mg/dl más con respecto a su glucosa basal. En cambio, indicarían malabsorción de lactosa, cuando la glucosa no se elevara por encima de esa cifra.

Los falsos positivos pueden ser debido a una respuesta rápida de insulina, y los falsos negativos pueden darse en pacientes diabéticos, y en aquellas personas que tienen sobrecrecimiento bacteriano [3].

2.3. Medición de pH fecal:

Esta prueba se realiza más en niños o lactantes.

Consisten en analizar el bolo fecal. La lactosa, al ser descompuesta por las bacterias del colon, tiene lugar un incremento de su ácido láctico, considerándose positivo cuando presenta un pH < al 5,5. Aunque debe considerarse que los lactantes amamantados, tienen un pH fecal aún menor, debido a una insuficiencia de lactasa relativa (ya que el lactante ingiere más cantidad de lactasa) [3].

2.4. Biopsia intestinal:

Mediante una muestra de la mucosa del intestino, se puede medir la actividad enzimática. Esta prueba además de ser un procedimiento invasivo [3], es poco fiable ya que la actividad que se refleja en una pequeña muestra de esta mucosa no tiene porqué reflejar la actividad del yeyuno en su conjunto [4].

2.5. Pruebas genéticas:

Mediante el análisis de una muestra de ADN, se podría identificar los dos polimorfismos del gen de la lactasa para poder detectar si es lactasa persistente, o lactasa no persistente. Es decir, se utiliza para detectar el déficit primario de hipolactasia [3], [4].

3. NUEVOS ENFOQUES:

Como medida terapéutica más empleada para controlar los síntomas de la intolerancia a la lactosa, se utiliza la restricción o supresión en la dieta de la leche y sus derivados, así como, en los casos más graves, de otros productos alimenticios que contengan en su composición lactosa. Pero esta medida, puede provocar serios problemas para la salud por la supresión del calcio, fósforo y vitaminas [4], y producir por ejemplo, osteoporosis [5]. Por esta razón, se están llevando a cabo nuevas investigaciones para encontrar mejores alternativas a este tratamiento. En los últimos años destacan las siguientes:

→ Sustitución enzimática: varios tipos de presentación de la enzima β -galactosidasa (enzima lactasa), puede ser una posible estrategia para reducir los síntomas a las personas con I.L. La podemos encontrar, desde su forma líquida, que se añadiría a la leche antes de su consumo, dejándola varias horas para que se produjera la hidrólisis de la lactosa, a su forma sólida, que serán ingeridas antes del consumo de productos lácteos. En la actualidad, podemos encontrar en varios países productos lácteos bajos en lactosa, donde estos ya han sido pre-hidrolizados, u obtener cápsulas o comprimidos masticables de la enzima lactasa [4]. En el caso de la enzima en su forma sólida, a pesar de considerarse una buena ayuda para estas personas, algunos especialistas no recomiendan que deba ser ingerida por norma. No obstante, esta enzima se obtiene a partir de levaduras u hongos (entre los hongos destacan *K. lactis* y *Aspergillus niger*), así que se tendría que tener en cuenta las personas que tengan alguna alergia a los mismos [5].

→ Probióticos: son microorganismos vivos, sobretudo bacterias, no patógenos, que se están utilizando como suplemento alimenticio, pudiendo mejorar la flora intestinal, aumentándola y activándola, consiguiendo efectos favorecedores para la salud (algunos de los más nombrados actualmente, son los lactobacilos y las bifidobacterias). Estos probióticos han sido el punto de estudio de los últimos años por parte de los científicos, lo que ha provocado un mayor interés a nivel general, y propiciado significativamente su uso. En productos lácteos, y mediante la fermentación, reducen el porcentaje de lactosa, consiguiendo reducir los síntomas.

Estos microorganismos también tratan de conseguir sobrevivir al proceso digestivo, hasta llegar al intestino, donde la presencia de la lactasa microbiana (que se encuentran presentes en las bacterias ácido lácticas), ayudan a mejorar la digestión de la lactosa. Se ha observado en distintos estudios que, según que probiótico se utilice junto a la lactasa, esta última actúa de distinta manera. A pesar de la evidencia en relación a que algunas cepas de probióticos pueden ser efectivas, se necesitan más investigaciones en este campo [1], [4].

→ Prebióticos: son ingredientes que llegan al intestino grueso, sin haber sido digeridos en el tracto gastrointestinal superior, y producen efectos beneficiosos estimulando de forma selectiva la actividad o el crecimiento de la flora

microbiana del colon, las cuales a su vez, presenta la propiedad de aumentar el potencial de salud de la persona. Los prebióticos son fibras dietéticas, que mejoran la fisiología gastrointestinal, destacando la insulina, peptina, y el almidón resistente. Su origen es vegetal, son fermentadas en mayor o menor medida en el colon, sirven de fuente de nutrientes a los probióticos, son osmóticamente activas y producen sustratos para la mucosa del colon. Tanto la fibra soluble como la insoluble, aportan sus propios beneficios. Como alimentos prebióticos por excelencia, se le consideran a los cereales integrales [6].

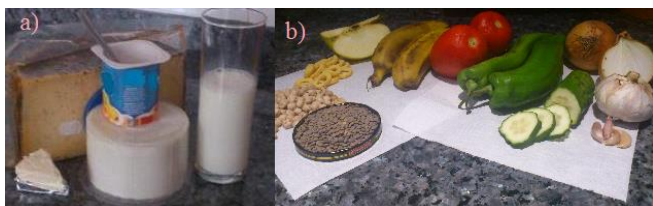


Fig. 1. Alimentos funcionales

a) Alimentos con probióticos y b) alimentos con prebióticos.

Fuentes propia

→ Simbióticos: es una mezcla de prebióticos y probióticos, que producen efectos beneficiosos en la persona, como por ejemplo inducir una inmunoestimulación en las mucosas intestinales, o evitar la translocación microbiana, ante una inflamación intestinal extrema [6].

→ Por otro lado, la reintroducción de la lactosa de forma gradual, tras un periodo de exclusión, podría ayudar a disminuir los síntomas, lo que sugiere que puede haber adaptación de la flora del colon, por tanto la lactosa se estaría comportando como un prebiótico [4], [5].

→ Hay estudios que han demostrado que la lactosa se tolera mejor combinándola con cereales u otros alimentos sólidos. También la leche con un alto contenido energético se digiere mejor que otras que tengan menos (como la semidesnatada). Esta combinación consigue enlentecer el vaciado gástrico, y además aumentar el tiempo del tránsito intestinal, alargando así el tiempo de exposición entre la enzima y la lactasa, y poder ayudar a reducir los síntomas de intolerancia en algunas personas. Por otro lado, se están considerando estrategias farmacológicas que puedan modificar el tiempo de contacto entre lactasa y lactosa, para mejorar los síntomas [4], [5].

4. CONCLUSIÓN

Se conoce que la mayoría de las personas con hipolactasia, pueden ingerir aproximadamente unos 12g de lactosa al día, sin presentar síntomas. Pero ante todo, cada uno debe conocer el umbral de tolerancia a la lactosa que presentan, y a partir de ahí poder combinar las distintas estrategias, para evitar o disminuir los síntomas. En la actualidad, se siguen estudiando posibles estrategias que buscan mejoras en la digestión de la lactasa, ya que optar solo por la supresión en la dieta de la leche y productos

lácteos, conlleva un déficit considerable del aporte de calcio y otras vitaminas importantes para la salud, por lo que hay que consumir productos ricos en esas sustancias.

Referencias

- [1] Claudia Manzano, A., Diana Estupiñán, G., Elpidia Poveda, E. (2012) "Efectos clínicos de los probióticos: qué dice la evidencia". Rev. chil. nutr. Vol.39 n°.1 págs. 98-110.
- [2] Campuzano Maya, G. (2009) "Pruebas de aliento basadas en hidrógeno". Medicina & laboratorio. Vol.15 n°. 9-10 págs. 431-456.
- [3] Licarallén Quevedo, C., Rojas, M., Soto, M. (2011) " Intolerancia a la lactosa". Rev. ped. electrónica. Vol.8 n°.3
- [4] Montalto, M., Curigliano, V., Santoro, L., Vastola, M., Cammarota, G., Manna, R., Gasbarrini, A., Gasbarrini, G. (2006) "Management and treatment of lactose malabsortion". World J. Gastroenterol. Vol.12 n°.2 págs. 187-91.
- [5] Lomer, M.C., Parkes, G.C., Sanderson, J.D. (2007) "Review article: Lactose intolerance in clinical practice-myths and realities". Aliment. pharmacol. ther. Vol.27 n°.2 págs. 93-103.
- [6] Marten Marén, D., Ramírez Arias, M.C., (2013) "Ecoimmunonutrición en el tratamiento de pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales" Medisan. Vol.17 n°.2

José María Guerrero Aranda Diplomado Universitario en Enfermería en el año 2007 por la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud (Universidad de Sevilla). Con varios años de experiencia en centros residenciales geriátricos, experiencia como docente de materia sanitaria, diversa formación continuada y expertos universitarios relacionados con su carrera.



Emilio José Mejías Arriaza Diplomado Universitario en Enfermería en el año 2007 por la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud (Universidad de Sevilla).



Jesica Victorino Santos Diplomada Universitaria en Enfermería en el año 2007 por la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud (Universidad de Sevilla). Con algunos años de experiencia en distintos hospitales públicos, diversos cursos de formación continuada y expertos universitarios relacionados con su carrera.



Melatonina exógena, ¿la panacea contra el jet lag?

M^a Lourdes Campaña Díaz

Resumen—Este artículo presenta los efectos beneficiosos de la síntesis de la hormona melatonina, sus acciones fisiológicas y cuestiona la administración de la melatonina exógena frente a los trastornos producidos por el jet lag, tal y como se afirma en varias campañas publicitarias.

Palabras Claves— Jet lag, Melatonina, Ritmos Biológicos, Ritmo circadiano, Viajes Transoceánicos.

1. INTRODUCCIÓN

El término “jet lag” es definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, como [1]: “ *los síntomas ocasionados por la alteración del reloj corporal interno y los ritmos circadianos que controlan dicho reloj, aproximadamente, cada 24 horas*”. Esta alteración se produce generalmente al cruzar distintas zonas horarias (de este a oeste y/o viceversa), en los viajes transoceánicos.

Muchos son los efectos perjudiciales del temido por muchos, jet lag; entre ellos: indigestión y trastornos de la función intestinal, malestar general, reducción de las facultades físicas y mentales, somnolencia durante el día y dificultad para conciliar el sueño durante la noche. El grado de afección varía en función de muchos factores, entre ellos, el de la predisposición genética y la capacidad individual a adaptarse a una nueva zona horaria. Éstos desaparecen gradualmente conforme el organismo se adapta a la nueva situación.



Figura 1: ejemplificación de los trastornos ocasionados por el jet lag.

Los síntomas del jet lag no se pueden prevenir, pero sí minimizar, ejemplo de ello pueden ser: estar lo más descansados posibles antes de viajar, tomar comidas ligeras antes de volar, evitar el consumo de cafeína y alcohol

entre las cuatro y las seis horas previas al viaje, tomar comprimidos de melatonina [2],...

Pero, ¿por qué son tan importantes todas estas consideraciones antes de volar?, ¿realmente se puede evitar el jet lag?, ¿por qué en algunas campañas publicitarias se recomienda tomar melatonina exógena en pastillas?, ¿cuál es su efecto?.

Es lógico que os hagáis estas preguntas, yo también me las haría si no hubiese estudiado la importancia de la melatonina en dos asignaturas de la carrera: Fisiología Animal y Biología del Comportamiento. Y es que aprendí que la importancia de la melatonina y su influencia en el jet lag radica en su relación con los ritmos biológicos que imperan en nuestra vida.

2. RITMOS BIOLÓGICOS

Debido a la rotación y traslación de la tierra, se establece una periodicidad y ritmicidad de las condiciones de luz y temperatura [3] que afectan a los patrones de migración, reproducción estacional, respuestas hormonales,... y que no son más que adaptaciones de los seres vivos al medio en el que viven; esto es lo que determina los ritmos biológicos.

Se denomina “ritmos biológicos” a la recurrencia de cualquier fenómeno dentro de un sistema biológico a intervalos más o menos regulares [4]. Estos ritmos biológicos están determinados genéticamente, son ubicuos (omnipresentes) e independientes de la temperatura y pueden ser modulados por determinados factores ambientales (luz/oscuridad), que se conocen como Zeitgeber (sincronizador) [5].

Existen diferentes clasificaciones para los ritmos biológicos, ya sea en función de su frecuencia, de los fenómenos geofísicos que los determinan, así como de su duración. Según este último criterio, los ritmos biológicos pueden ser ultradianos (si tienen una duración mayor a las 24 horas), infradianos (si su duración en cambio es menor a las 24 horas) y circadianos; a los que el presente artículo hace alusión, ya que son los de una duración cercana a las 24 horas y coinciden con la alternancia noche/día [4], éste es el ciclo que sigue la síntesis de la hormona melatonina en mamíferos [6].

3. MELATONINA

La melatonina es una hormona sintetizada por la glándula pineal a partir del triptófano (aminoácido esencial que debe ser aportado por la dieta) y la enzima N-acetiltransferasa. Se ha descrito que esta hormona tiene una antigüedad de más de 2000 años y se ha comprobado que existe en todos los animales y plantas estudiadas [7], hechos que denotan la relevancia de esta MoleQla.

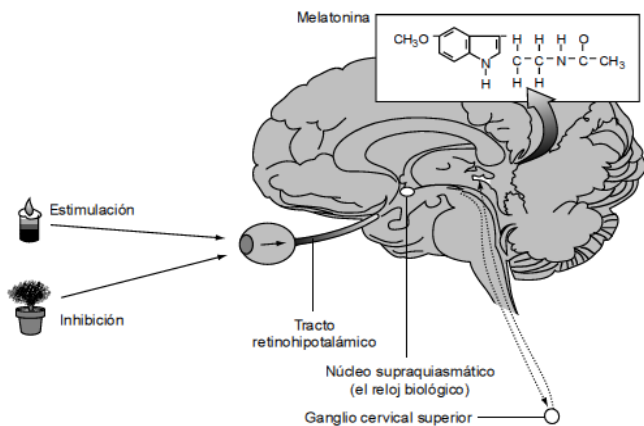


Figura 2: Vías nerviosas de síntesis de la melatonina [8].

La síntesis de la melatonina, esta curiosa MoleQla, sigue las órdenes marcadas por un reloj endógeno u oscilador primario, que en mamíferos es el núcleo supraquiasmático (Figura 2); los estímulos van desde ahí, hasta el ganglio cervical superior, y de éste al oscilador secundario, o glándula pineal. La información acerca del estado en el que se encuentra el organismo también produce modulaciones, y son las procedentes de: corteza cerebral, telencéfalo basal, tálamo, hipotálamo, órganos circunventriculares y tallo cerebral [9].

A la melatonina también se le suele llamar “la hormona de la oscuridad”, y su proceso de síntesis es complejo. Simplificándolo, podríamos decir que la glándula pineal transforma en melatonina la información lumínica del fotoperiodo recibida por los pinealocitos de la retina y por el núcleo supraquiasmático. Esta síntesis se estimula en condiciones de oscuridad (Figura 3), produciéndose un pico de máxima secreción a mitad de la noche, entre las dos y las cuatro de la madrugada. Tras su síntesis, la melatonina no se almacena, sino que se libera en sangre [10] y es captada por sus receptores que se localizan en varios lugares, donde ejerce sus acciones fisiológicas:

- Regulación de los ritmos circadianos, como ya se ha comentado.
- Regulación de los ritmos circanales: muy importantes en los animales de reproducción estacional y que relaciona el pico de máxima secreción de melatonina nocturno, con las hormonas involucradas en la reproducción, el tamaño de los órganos sexuales y con el ciclo estral [11].
- Regulación de la sensibilidad a la luz en la retina, de la función vascular y de la secreción hormonal [12].
- Importante acción antioxidante y protectora frente a los radicales libres [13].

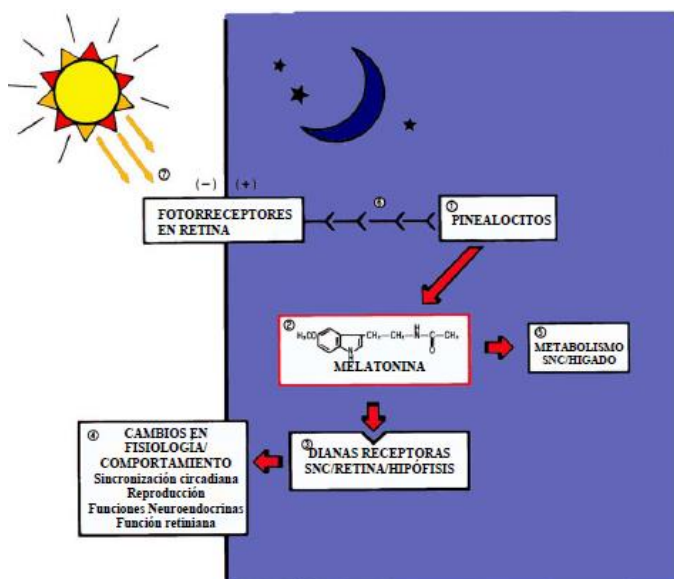


Figura 3: Esquema que simplifica los componentes del sistema de regulación de la melatonina en mamíferos, así

como los efectos fisiológicos que produce. Modificado de [14].

4. MELATONINA COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO

La administración de la melatonina como medicamento no está aprobada por la Food & Drug Administration (FDA), ya que es difícil evaluar su eficacia y los métodos de fabricación no están normalizados; por lo que se distribuye como complemento alimenticio y en Internet se pueden encontrar muchos productos.

En España, se comercializan dos productos, uno de la farmacéutica NORMON, dentro de su línea de suplementos alimenticios Normovital®, que lo presenta como una solución indicada para disminuir el tiempo necesario para conciliar el sueño en caso de jet lag y para las personas cuyo horario diario de trabajo cambia [15]. Y el otro de la marca Aquilea, con las mismas aplicaciones [16].



Figura 4: Normovital Melatonina, complemento alimenticio de 1,75 mg de melatonina y de Aquilea Melatonina®, de 1,95 mg de melatonina y vitamina B6.

No obstante, se están llevando a cabo muchos estudios sobre las diferentes posibilidades terapéuticas de la melatonina, ejemplo de ello es el trabajo del profesor Antonio Carrillo Vico de la Universidad de Sevilla (en adelante, US) sobre los efectos terapéuticos del tratamiento con melatonina en casos de esclerosis múltiple; o los estudios preventivos, que realizan junto con el Instituto de la Grasa y el Grupo de investigación de Ciencia y Tecnología de Sistemas Dispersos de la US sobre una bebida bioactiva con propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes.

5. CONCLUSIONES

Los efectos de la melatonina como regulador circadiano son los responsables del ajuste del reloj endógeno que todos tenemos, y que sufre una alteración conocida como jet lag al realizar viajes transoceánicos.

Debido a que el mecanismo de síntesis de la melatonina es muy complejo y obedece a varios osciladores, además de las condiciones propias de cada individuo, los efectos de este trastorno varían personalmente. Por todo ello, la OMS prefiere hacer hincapié en los buenos hábitos antes, durante y después del viaje para combatir el jet lag; mejor que recomendar la administración de melatonina exógena como medicamento, y que reserva a casos extremos y bajo la prescripción médica.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco mis conocimientos a todos aquellos profesores y profesoras que con sus sabias doctrinas han conseguido suscitar reflexión, practicidad, aplicabilidad, y consejo. A todos los que hacen de su trabajo una pasión en el día a día, y que han despertado en mí una vocación que creía dormida.

REFERENCIAS

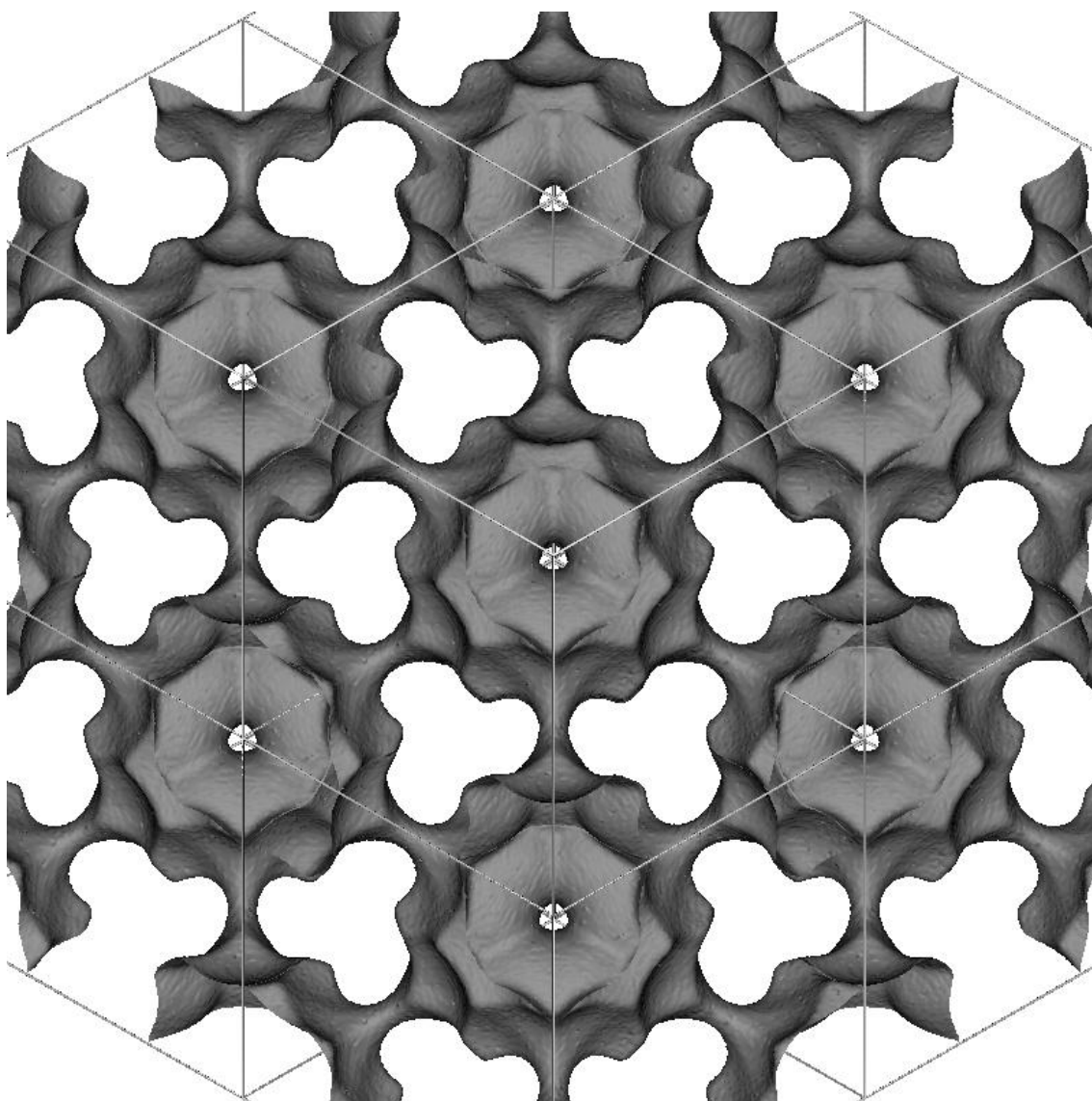
- [1] Web del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/salud/viajesInter/home.htm>
- [2] Arendt J, Aldhouse M, Marks V. (1986). Alleviation of jet lag by melatonina: Preliminary results of controlled double blind trial.
- [3] Márquez de Prado García, Blanca. (2012). Ritmos circadianos y neurotransmisores: Estudios en la corteza prefrontal de la rata.
- [4] Delgado-García, J. M. (1992). Ritmos biológicos. *En: AF Tresgüerras (Comp.), Fisiología Humana, Interamericana-McGraw-Hill, Madrid, , 1166-1180.*
- [5] Mora, F., & Sanguinetti, A. M. (1994). *Diccionario de neurociencias/Dictionary of neuroscience* Alianza Editorial SA.
- [6] Murcia García, J., Muñoz Hoyos, A., Molina Carballo, A., Fernández García, J., Narbona López, E., & Uberos Fernández, J. (2002). Pubertad y melatonina. *An Pediatr (Barc)*, 57(02), 121-126.
- [7] Reiter RJ.(1989). The pineal and its indole products. Basic aspects and clinical applications. Cohen MP, Foa PP, editors. *The brain as an endocrine organ. Endocrinology and metabolism. Vol. 3.* New York: Springer-Verlag.
- [8] Brzezinski A. (1997). Melatonin in human.
- [9] Moore, R. J. y Leak, R.K.(2001). Suprachiasmatic nucleus. *Handbook of behavioural neurobiology: circadian clocks.* Takahashi, J.S., Turek, F.W. y Moore, R.J. (eds.) pp.141-179. Kluwer Academics/Plenum Publisher, New York.
- [10] Reiter, R.J. (1993). The melatonin rhythm: both clock and calendar. *Experientia* 49, 654-664.
- [11] Moore, R. Y.(1999). Circadian timing. *En: Fundamental Neuroscience.* Zigmond, M.J., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J.L. y Squire, L.R. (eds.), pp. 1189-1206. Academic Press, San Diego.
- [12] Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.* 78, 687-721.
- [13] Poeggeler, B., Reiter, R.J., Tan, D.-X., Chen, L.D. y Manchester, L.C. (1993). Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a Hypothesis. *J. Pineal Res.* 14, 151-168.

- [14] Krause, D. N., & Dubocovich, M. L. (1990). Regulatory sites in the melatonin system of mammals. *Trends in Neurosciences*, 13(11), 464-470.
- [15] Página web de NORMON, <http://normon.es/ficha.cfm?id=987>
- [16] Página web de Aquilea: <http://www.aquilea.com/es/producto/aquilea-melatonina/74>



Mª Lourdes Campaña Díaz (Marchena, Sevilla), Licenciada en Ciencias Ambientales por la Universidad Pablo de Olavide en 2010. Máster de Profesorado en ESO, Bachillerato, F.P. y Enseñanza de Idiomas, también por la UPO en 2011. Experiencia laboral en empresas públicas y privadas. Actualmente cursando Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria por la UPO.

MOLEQLA SIMULACIÓN



Estudio de las propiedades dinámicas y estructurales del argón líquido

José Manuel Vicent Luna

Resumen— En este estudio son analizados los resultados de simulación molecular para el argón líquido. A partir de un modelo se intenta reproducir la densidad del sistema en unas condiciones determinadas de presión y temperatura. Después se estudian las propiedades dinámicas y estructurales del argón. Las funciones de distribución radial y el desplazamiento cuadrático medio en función de la temperatura han sido analizados y se han calculado los coeficientes de difusión, donde se compara el resultado de diferentes programas de simulación.

Palabras Claves— Argón, líquido, difusión, simulación, estructura.

El objetivo de este estudio es obtener mediante simulación molecular las propiedades dinámicas y estructurales del argón líquido, como la función de distribución radial RDF, desplazamiento cuadrático medio MSD y coeficientes de difusión a diferentes temperaturas.

La función de distribución radial es la probabilidad de encontrar una partícula entre una distancia r y $r + dr$ de otra partícula. Da información de como se estructuran las partículas que forman el sistema. El desplazamiento cuadrático medio da información de como se mueven las partículas dentro del fluido, siendo el coeficiente de difusión la facilidad que tienen las partículas de moverse dentro de un sistema dado. Una vez obtenido el desplazamiento cuadrático medio, se identifica el régimen difusivo y se calcula el coeficiente de difusión como la sexta parte de la pendiente de la recta que ajusta la representación del desplazamiento cuadrático medio en función del tiempo.

Las condiciones en las que se ha trabajado son las siguientes: El estudio se ha realizado para el argón líquido a 90, 100, 110 y 140 K. La presión se ha fijado a 100 atmósferas, ya que en estas condiciones el argón se encuentra en estado líquido. Los parámetros Lennard-Jones utilizados en este trabajo son: $\sigma=3.405 \text{ \AA}$ y $\epsilon=120 \text{ \AA}$. Estos parámetros forman un modelo que reproduce adecuadamente el comportamiento macroscópico del sistema.

Se comienza realizando simulaciones de dinámica molecular en el colectivo NPT con el fin de encontrar la densidad del sistema. Con los programas de simulación RASPA y GROMACS [1], son fijados, el número de partículas, la presión y la temperatura, dejando fluctuar el volumen. Así se consigue calcular la densidad del argón para poder compararla con valores experimentales. Se comprueba que se ha estabilizado la presión y temperatura rondando los valores deseados.

La teoría RHNC (Reference hipernetted chain) [2] proporciona una solución a las ecuaciones integrales de movimiento de la dinámica molecular, obtenidas a partir del uso de un potencial de interacción. Proporciona un desarrollo exacto de la función de distribución radial, incorporando a las ecuaciones un desarrollo de la teoría de perturbaciones. Esta teoría esta implementada en un programa que denominaremos RHNC.

Con RHNC, se fija un valor de densidad y se parte de un valor alto de temperatura, ("fundido" del sistema), seguidamente se enfría poco a poco el sistema partiendo de los resultados anteriores hasta obtener la temperatura deseada. Esta simulación también proporciona la función de distribución radial del sistema.

Partiendo de un estado de equilibrio dado por la simulación anterior, se realiza otra simulación en el colectivo NVT para calcular el desplazamiento cuadrático medio, a partir del cual se obtiene el coeficiente de difusión. Las simulaciones han sido realizadas con un total 10^6 pasos con un timestep de 0.5 fs, lo que da una simulación de 0.5 ns. El termostato utilizado es el de Nose-Hoover y el barostato es Parrinello-Rahman en GROMACS y Martyna-Klein en RASPA.

En primer lugar, la figura 1 muestra los valores de densidad calculados en las simulaciones y los experimentales obtenidos del NIST. Como se puede observar RASPA reproduce perfectamente la densidad del argón a 90 y 100 K, mientras que a 110 y 140 K, difiere un poco, siendo el error cometido inferior al 10 %. Por otra parte, GROMACS da resultados en el mismo orden de magnitud, pero a 90 K se obtiene un valor por debajo de lo esperado, ya que la densidad debería ser mayor cuanto menos es la temperatura. A temperaturas mas bajas la densidad varía poco con la temperatura, pero a medida que se calienta el sistema, la densidad varía mucho con incrementos muy pequeños de temperatura. Esto puede explicar por que a temperaturas más altas el error es mayor.

Las figuras 2 y 3 muestran como se consigue la estabilización de la presión y temperatura en las simulaciones realizadas con RASPA. En ambos casos se obtienen los

Temperatura [K]	RASPA [kg/m ³]	GROMACS [kg/m ³]	NIST [kg/m ³]
90	1407,3	1293,2	1407,2
100	1352,1	1350,7	1349,4
110	1194,0	1189,8	1288,2
140	1090,1	1004,8	1065,5

Fig. 1. Tabla de resultados de densidad en función de la temperatura.

valores esperados. En el caso de GROMACS se obtienen resultados muy similares.

Verificando la densidad, la temperatura y la presión del sistema podemos centrarnos en el análisis de los resultados buscados.

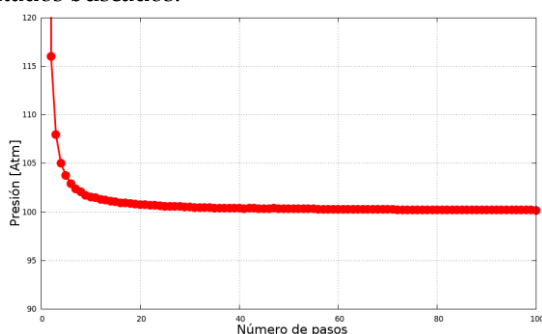


Fig. 2. Valor de la presión en función de los pasos de simulación.

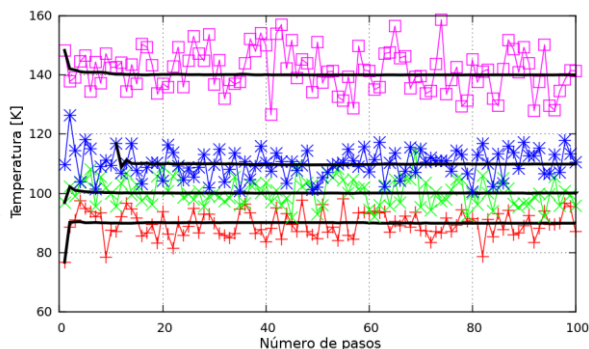


Fig. 3. Valor de la temperatura en función de los pasos de simulación.

En la figura 4 se muestra como evoluciona la función de distribución radial con la temperatura. Se observa que al aumentar la temperatura, el comportamiento es el mismo, pero disminuye el pico principal y la RDF se va haciendo cada vez más suave. Esto se debe porque el estado evoluciona de un líquido muy compactado a un estado más libre en el que las partículas se van moviendo a mayor velocidad. Similares resultados se obtuvieron para GROMACS y RHNC.

El siguiente paso es el análisis del desplazamiento cuadrático medio. En la figura 5 se puede observar el desplazamiento cuadrático medio en función de la tempe-

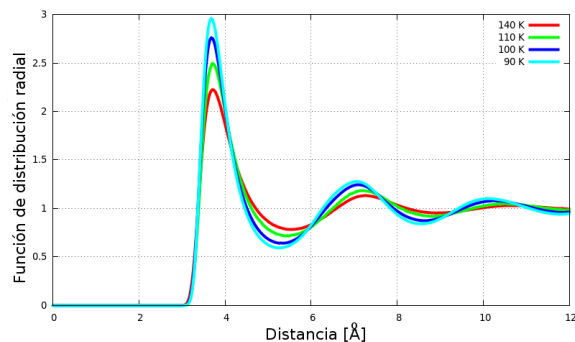


Fig. 4. Función de distribución radial del argón a diferentes temperaturas, calculada con RASPA.

ratura. Se observa que a medida que se aumenta la temperatura, la difusión es mayor, que es el resultado esperado ya que al calentar el sistema lo que se hace es proporcionar energía a las partículas y estas se mueven más rápidamente.

La figura 6 muestra una tabla con los coeficientes de difusión calculados a partir del desplazamiento cuadrático

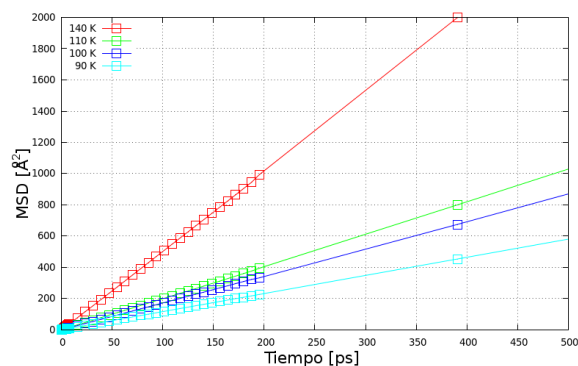


Fig. 5. Desplazamiento cuadrático medio del argón en función del tiempo a diferentes temperaturas, calculada con RASPA.

co medio.

Se reafirma la concordancia entre RASPA y GROMACS y además se obtienen valores del orden de 10⁻⁹ m²/s, que es lo común para un sistema en fase líquida.

Temperatura [K]	RASPA [·10 ⁻⁹ m ² /s]	GROMACS [·10 ⁻⁹ m ² /s]
90	1,93	1,86
100	2,88	2,33
110	3,42	3,84
140	8,55	7,75

Fig. 6. Tabla de coeficientes de difusión en función de la temperatura.

Finalmente a partir de estos datos del coeficiente de difusión, se puede aplicar la ley de Arrhenius (1) con el fin de conocer la energía de activación del proceso.

Donde $D(T)$, es el coeficiente de difusión, E_a , es la energía de activación, A una constante relacionada con el número de colisiones de las partículas, R , la constante de

$$D(T) = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (1)$$

los gases ideales y T , la temperatura.

La figura 7 muestra la representación del logaritmo neperiano del coeficiente de difusión frente al inverso de la temperatura, que da como resultado una recta de pendiente $-E_a/R$.

Como se puede observar, ambos programas producen resultados muy similares, ajustándose bien los puntos a una recta. Utilizando estos valores, se obtiene una energía de activación de 3.084 kJ/mol en el caso de RASPA y

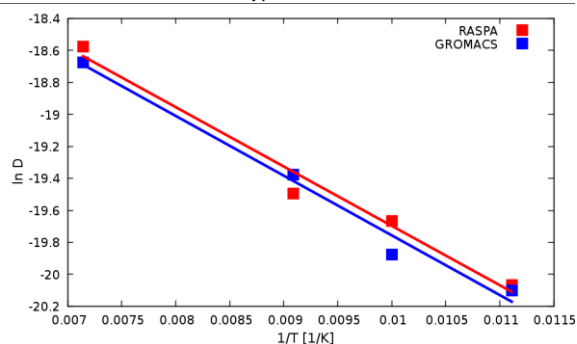


Fig. 7. Ajuste lineal del logaritmo del coeficiente de difusión frente al inverso de temperatura.

3.103 kJ/mol con GROMACS. Como se ha obtenido un buen ajuste a una recta, cumpliéndose la ecuación de Arrhenius, se tiene que la difusión del argón líquido es un proceso activado, cuya barrera de potencial se encuentra en torno a 3 kJ/mol.

En este estudio se ha demostrado, que el modelo utilizado es válido para reproducir los valores de densidad experimental del argón líquido. Se ha visto que un aumento de temperatura conlleva una disminución del pico principal de la RDF y a un aumento del MSD y por consiguiente del coeficiente de difusión. Se puede concluir que se han reproducido las propiedades del argón líquido con tres programas diferentes poniéndose en práctica fundamentos de la dinámica y la simulación.

REFERENCIAS

- [1] "GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation" H.J.C. Berendsen, D. Van Der Poel, and R. Van Drunen. COMP. PHYS. COMM. 91, 43-56 (1995)
- [2] "La teoría RHNC y su aplicación a esferas duras dipolares"



José Manuel Vicent Luna licenciado en Ciencias Físicas por la Universidad de Córdoba en el año 2011. Durante su formación académica realizó actividades de alumno colaborador en el área de Física del Plasma del departamento de Física de la Universidad de Córdoba. Así mismo en 2010 realizó prácticas de empresa en el Almacén Centralizado de RBMA EL CA-BRIL en el departamento de Protección Radiológica y Medio Ambiente de la

empresa nacional de residuos radiactivos S.A. (Enresa). En enero de 2012 comenzó su doctorado en el grupo RASPA del departamento de Sistemas Físicos, Químicos y Naturales de la Universidad Pablo de Olavide. Su investigación se basa en la simulación molecular de materiales nanoporosos y líquidos iónicos con aplicaciones tecnológicas.



Molekula

Viva



El caso del primer hombre que se curó de SIDA

Miriam Palomar Bonet

Resumen— El sida es uno de los mayores desafíos mundiales dentro del campo de la salud que padecemos en la actualidad. De hecho a finales del año 2011 existían 34 millones de personas que vivían con el VIH (virus de la inmunodeficiencia humana) en el mundo [1]. La región más afectada por este virus es África subsahariana donde se encuentran el 69% de las personas infectadas. Hasta ahora el sida era una enfermedad que no tenía cura pero gracias a un trasplante de células madre de médula ósea con una mutación, Timothy Brown ha sido la primera persona considerada curada de sida después de más de 5 años sin tomar el tratamiento antirretroviral. En este artículo se presentan las características de las células madres transplantadas al paciente y los estudios posteriores realizados para comprobar su curación.

Palabras Claves— CCR5, Cura, SIDA, Timothy Brown, Trasplante médula ósea.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se usa la terapia antirretroviral (TAR) para tratar el sida, la cual está constituida por un conjunto de fármacos que actúan en varias etapas del ciclo vital del VIH impidiendo su multiplicación. Gracias a esta terapia cada año bajan las nuevas infecciones y la mortalidad. Desde 1995 esta terapia ha salvado la vida de 14 millones de personas en países subdesarrollados y ha otorgado una calidad de vida prácticamente similar a la de una persona sana [1]. Sin embargo, este tratamiento es incapaz de erradicar la infección porque el virus permanece latente en reservorios celulares. Por ello es necesario mantener la medicación durante toda la vida, ya que si se interrumpiese la terapia se reiniciaría la infección. Debido a esto hay muchos grupos de investigación con el objetivo de encontrar la cura del sida o producir vacunas para prevenir a la población de la infección.

1.1. Conceptos básicos del virus del SIDA

El VIH es un lentivirus que provoca el Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en el ser humano. Este virión afecta a una de las principales células del sistema inmune: los linfocitos T CD4⁺ (T_H). Al comienzo de la infección el VIH se une a un linfocito T_H mediante la proteína gp120, la cual es reconocida por el receptor CD4 del linfocito T y uno de sus correceptores CCR5 o CXCR4. Entonces se fusionan las membranas y el virus entra en la célula donde crea muchas copias. Estas copias saldrán del linfocito para seguir infectando a otros y que progrese la infección. Debido a ello se reduce el número de linfocitos T, lo que lleva a una carencia en el sistema inmune del individuo infectado por el virus. La presencia de estos correceptores es imprescindible para el reconocimiento entre el virus y el linfocito y su posterior entrada [2]. Los correceptores definen el tropismo del virus (el tipo de célula CD4⁺ que es capaz de infectar). Al comienzo de la infección es el tropismo R5 (infectan a las células con el

correceptor CCR5) el que actúa mayoritariamente, mientras que el X4 (correceptor CXCR4) lo hace cuando ya está muy avanzada la infección (al transcurrir varios años) [3].

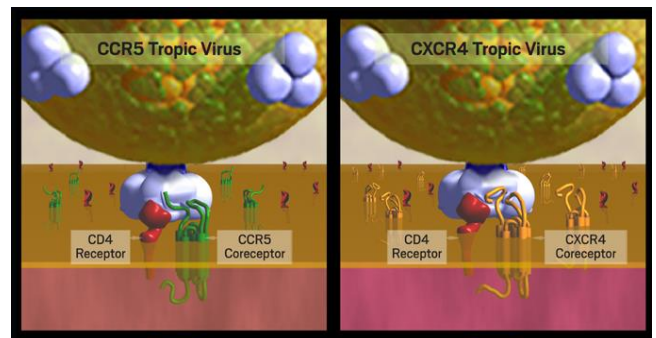


Fig. 1. Diferentes tipos de tropismo del VIH. A) Tropismo R5 donde se muestra el receptor CD4 y el correceptor CCR5. B) Tropismo X4, se muestra el correceptor CXCR4 [3].

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este artículo se presenta el primer caso en el que un hombre se ha logrado curar de sida. Este hombre se llama Timothy Brown, “el paciente de Berlín”. Brown era un estudiante norteamericano en Berlín cuando en 1995 contrajo SIDA. En aquel momento se sometió al tratamiento convencional, los antirretrovirales, pero en 2006 se le diagnosticó una leucemia mieloide aguda por lo que habría que realizarle un trasplante de médula ósea [4].

Por ello a su médico Gero Hütter, se le ocurrió realizar un trasplante con células madre hematopoyéticas de un donante compatible que tenía una mutación homocigótica en el receptor CCR5 (células CCR5 Δ 32/ Δ 32), que hace que no se expresen correctamente. Al ser necesario este correceptor para que el VIH R5 pueda entrar en los linfocitos T ayudantes y se desarrolle la enfermedad, esta novedosa técnica podría, en teoría, curar el cáncer y el VIH a la vez [4]. Brown se sometió a dos trasplantes de médula ósea con estas células madres: una en 2007 y otra en 2008

debido a una recaída en la leucemia. Desde el momento en el que se le practicó la primera intervención dejó de tomar la terapia antirretroviral y empezó a tomar fármacos inmunosupresores, necesarios para el trasplante, aunque se fue reduciendo esta terapia hasta que a los 38 meses después de la intervención se suprimió esta medicación [4].

Se podría esperar que el VIH resurgiera debido a los reservorios virales que de este quedan en el interior del cuerpo. Además, aunque CCR5 sea el tropismo más importante para el inicio de la infección, podría darse el caso de que las variantes trópicas X4 reiniciasen la enfermedad una vez que el sistema inmunológico fuera restaurado. Debido a esta posibilidad en el estudio del paciente se buscaron las respuestas a las siguientes cuestiones: ¿Se produce la restauración eficiente de las células T CD4+? ¿El sistema inmunológico de Brown incluye células susceptibles al virus? ¿Existe un reservorio viral estable después de la reconstitución inmune del paciente? Para responder estas preguntas llevaron a cabo diversas pruebas y estudios a lo largo del tiempo.

2.1. Confirmación de la reconstitución inmune del paciente a partir de las células transplantadas

En primer lugar se realizó el recuento y el genotipado de los alelos CCR5 de las células T CD4+ extraídas de la sangre periférica del paciente. Los resultados obtenidos de las pruebas fueron: la ausencia de células que presentasen este receptor y el aumento de los linfocitos T ayudantes, llegando al rango de los controles sanos dos años después del trasplante. Es decir, se produjo la reconstitución del sistema inmune. Por otra parte, también se estudiaron las células TH del tracto gastrointestinal al analizar biopsias de colon en tres periodos diferentes. Veintinueve meses después del trasplante la densidad de células era igual a la de los pacientes con el mismo tipo de trasplante (controles del trasplante). Sin embargo, comparado con controles sanos había el doble de células, así que se demostró que este tratamiento enriquece el número de linfocitos TH (figura 2). Además en los análisis genotípicos sólo se encontraron células con ausencia del receptor CCR5 (figura 3). Así se concluyó que todos los linfocitos T ayudantes del paciente provenían de las células donadas [5].

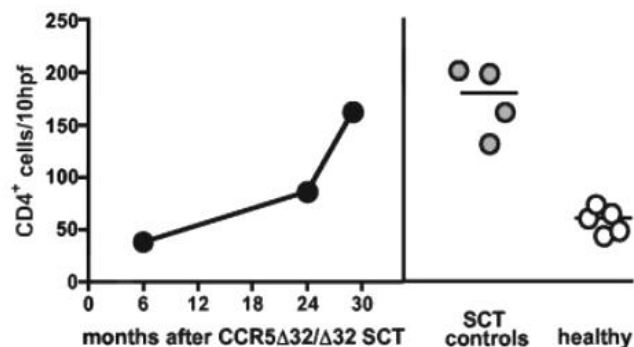


Fig. 2. Gráfico del recuento de las células T CD4+ en las muestras de colon del paciente, controles del trasplante (SCT controls) y controles sanos. La línea horizontal indica los valores medio de cada grupo [5].

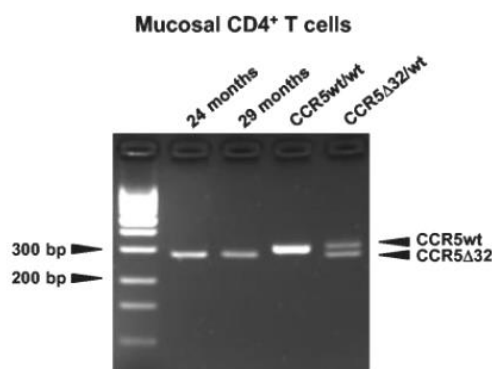


Fig. 3. Electroforesis obtenida con las muestras de la PCR que abarca la región donde se encontraría la mutación [5].

2.2. Estudio sobre la infección por el tropismo X4

Por otra parte los científicos encargados del estudio compararon los correceptores CXCR4 del paciente con controles con el CCR5 WT para descubrir si las células CCR5Δ32/Δ32 presentaban deficiencias también en el correceptor CXCR4. Los resultados fueron que la densidad de este tipo de correceptores eran similares a los de los controles por lo que concluyeron que la mutación no estaba asociada a daños en CXCR4. Así que se deduce que el paciente no está protegido contra el VIH X4. Para demostrar la susceptibilidad de las células T ayudantes a la infección del VIH X4 se realizaron infecciones ex vivo a células extraídas del paciente. Como se esperaba, fueron infectadas por el VIH X4 trópicas pero no por las R5 trópicas [5].

2.3. Detección de VIH en el paciente

Por último se realizaron pruebas para detectar si se encontraba el VIH en el paciente: se analizó la presencia de ADN y ARN del virus en distintos tejidos durante 45 meses después del trasplante y no se detectaron secuencias virales. Además, durante los primeros 20 meses descendieron los anticuerpos contra la polimerasa del VIH, los específicos de la envoltura y del core. En la actualidad Brown sólo tiene anticuerpos contra la envoltura del VIH, lo que indica la ausencia de la expresión del virus después de la interrupción de la terapia ART [5].

3. CONCLUSIONES

En conjunto, los estudios demostraron que al ser eliminadas completamente las células originales del paciente se ha restaurado con éxito el sistema inmune central y el periférico con células resistentes a la infección por VIH R5, aunque son susceptibles para VIH X4. En definitiva, debido a que en todos los estudios anteriormente citados y en las pruebas convencionales para el diagnóstico del VIH han dado como resultado que no hay evidencias de infección después de más de 5 años desde la interrupción del tratamiento con ART, los investigadores declararon que se ha conseguido la cura de este paciente: "In conclusion, our results strongly suggest that cure of HIV has been achieved in this patient", es decir: "En conclusión, nuestros resultados sugieren fuertemente que se ha alcanzado la cura del VIH en este paciente" [5].

En resumen esta curación ha sido un gran avance ya que se estima que se ha logrado erradicar por primera vez el VIH en una persona infectada. Sin embargo, hay que tener en cuenta que es un tratamiento que no se puede generalizar por varias razones: es un tratamiento caro y complejo (sobre todo para realizarlo en África, donde se dan la mayoría de los casos), con bastante peligro, (el trasplante de médula ósea es un procedimiento con una mortalidad entre el 30 y el 50%), además este tipo de mutación sólo se encuentra en el 1% de las personas del norte de Europa, por lo que no habría suficientes donantes para todas las personas infectadas por VIH, sin tener en cuenta que ya es bastante difícil encontrar una persona compatible como para que además cumpla la condición de que presente la mutación detallada en este artículo; por último, se debe considerar que sólo está protegido para el VIH R5. Sin embargo, es un gran logro que podría abrir nuevas puertas en la investigación para la erradicación del VIH, como por ejemplo el uso de la terapia génica (aunque en la actualidad todavía no es posible la utilización de este método) y sobre todo como demostración de que es posible encontrar una cura para el sida.

REFERENCIAS

- [1] "Unaid report on the global aids epidemic 2012" Págs 8-15. http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_en.pdf.
- [2] L. Carrasco, J. M. Almendral del Río. *Virus Patógenos*. Editorial Hélice, 2006.
- [3] Joseph P. and Sanjy Shah, "Understanding HIV Tropism," The PRN Notebook, vol 15. http://www.prn.org/index.php/management/article7hiv_tropismo_1002.
- [4] S. G. Deeks and F. Barré-Sinoussi, "Towards a cure for HIV" *Nature*, vol 487, pp.293-294. Julio 2012.
- [5] K. Allers and Gero Hütter, "Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cells transplantation" *Blood, Nature*, vol 117, no.10, pp 2791-2799.



Miriam Palomar Bonet es alumna de 5º de la licenciatura en biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide en el curso 2012/2013. Ha colaborado en otra ocasión con esta revista con el artículo "Medicamentos biotecnológicos" en su tercer número.

El cromosoma Filadelfia en la Leucemia Linfoblástica Aguda en adultos

Eva Cuéllar Vivero

Resumen—La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es un tipo de leucemia que en ocasiones puede presentar el cromosoma Filadelfia (Ph⁺); un cromosoma responsable de la formación de un oncogen quimérico denominado *BCR-ABL* responsable de numerosas patologías relacionadas con el desarrollo de los linfocitos B. Debido a las implicaciones que implica la presencia de este cromosoma, resulta de vital importancia realizar un completo análisis citogenético (ya sea convencional, molecular o combinado) junto con la aplicación de la terapia adecuada, incluyendo un fármaco muy novedoso, el *imatinib*.

Palabras Claves— *BCR-ABL*, citogenético, Filadelfia, imatinib, Leucemia linfoblástica aguda.

1. INTRODUCCIÓN

Las leucemias son un grupo de enfermedades caracterizadas por el desarrollo de células hematopoyéticas anómalas, en la médula ósea, sangre y/o otros tejidos. Estas enfermedades no tienen un origen definido, ya que pueden surgir debido a factores genéticos, hereditarios o ambientales; es decir, el origen es multifactorial. A pesar de las diferencias existentes entre los tipos de leucemias, el denominador común de todas ellas se basa en una o varias mutaciones somáticas en las células progenitoras hematopoyéticas; en las que, en función de la estirpe afectada, condicionarán a la línea mieloide o linfoide. Uno de los tipos de leucemias es la leucemia linfoblástica aguda

(LLA), en el que las células malignas que se originan en la médula ósea acaban afectando a los linfocitos B y T. [1] En concreto, esta enfermedad se caracteriza por la acumulación de células madre anómalas, denominadas leucémicas, que conllevan a la formación de una cantidad excesiva de linfocitos B o T. Esto se traduce en que, a medida que va aumentando el número de células leucémicas, hay menos espacio para los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y las plaquetas sanas, además de que las propias células leucémicas son incapaces de luchar contra la infección, lo que da lugar a un amplio espectro sintomatológico. [2]

Aproximadamente, uno de cada cuatro adultos con LLA expresa una proteína oncogénica denominada *BCR-ABL*, fruto de la traslocación cromosómica t(9;22) que da lugar

al llamado *Cromosoma Filadelfia* (Ph). Hasta hace sólo unos años, la presencia de este cromosoma en las células madre linfoides era sinónimo de mal pronóstico para aquellos pacientes que fueran Ph⁺, pues condicionaba el desarrollo de los blastos de manera irremediable. El oncogen *bcr-abl* da lugar a una proteína con actividad kinasa que actúa en la diferenciación linfoide. [3]

A lo largo de esta revisión, se va a profundizar en la formación del cromosoma Filadelfia y en la repercusión que acarrea; así como en las técnicas de detección del mismo y en una vía de remediación muy reciente; cuyo descubrimiento ha supuesto un enorme progreso en la paliación de esta enfermedad, que hasta hace sólo unos años carecía de cura.

2. EL CROMOSOMA FILADELFIA

2.1. Antecedentes

En 1960, Hungeford y Novell encontraron el cromosoma Filadelfia en sus pacientes con leucemia mieloide crónica (otro tipo de leucemia que también presenta la misma traslocación cromosómica), al que denominaron así por ser en Philadelphia donde lo descubrieron. Más tarde, y gracias al avance de la ciencia, Janet Rowley determinó que la formación de este cromosoma se debía a una traslocación entre dos cromosomas, que resultaba en la fusión del gen *bcr* (procedente del cromosoma 22) y del gen *abl* (cromosoma 9). La formación del mismo puede verse en la Figura 1. El oncogen resultante codificaba para una proteína con una fuerte actividad quinasa. [4]

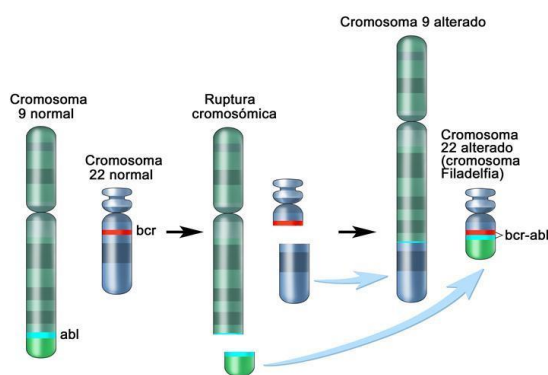


Fig. 1. Traslocación que da lugar al Cromosoma Filadelfia

2.2. Formación del Cromosoma Filadelfia

Las alteraciones estructurales de los cromosomas son una posible causa de formación de oncogenes en las leucemias (junto con las alteraciones numéricas cromosomales). Una de estas alteraciones surge de la traslocación del cromosoma 22 y del 9, lo que conlleva a la formación del cromosoma Filadelfia y con ello, a la formación del oncogen

quimérico *bcr-abl*. La causa más probable de generación de este cromosoma se debe a errores en los mecanismos de recombinación, que dan lugar a los genes de que codifican para receptores de antígenos en condiciones celulares normales. Este cromosoma, presente en el 30% de los adultos que padecen LLA, poseen un breakpoint en el primer intrón del gen *bcr*, mientras que el gen *abl* no experimenta modificación alguna. Con motivo de ello, se transcribe un ARNm quimérico de 7kb, denominado *e1a2*. Este ARNm es el que da lugar a una proteína con actividad tirosina quinasa denominada p190. "[1], [5], [6]" La desregulación de la proteína conlleva a fosforilaciones aberrantes, lo que da lugar a un fenotipo característico en estas leucemias: desarrollo anómalo de los linfocitos B. Esta tirosina quinasa es la responsable de la activación de varias rutas de señalización, como la de las Map-kinasas, PI3K, JNK/SAPK o activación de *c-Myc*, entre otros. Todo esto promueve el desarrollo y proliferación de los linfocitos B anómalos; al mismo tiempo que reduce la posibilidad de apoptosis en las células leucémicas. De esta forma, y como veremos más adelante, el bloqueo de la actividad quinasa en *bcr-abl* será clave para paliar esta enfermedad. "[7], [8]"

3. DETECCIÓN DEL CROMOSOMA FILADELFIA

3.1. Citogenética convencional

El análisis citogenético de los linfocitos B anómalos en pacientes con LLA ha permitido el reconocimiento de alteraciones cromosómicas y con ello, ha posibilitado la elaboración de un pronóstico y de una terapia específica para cada caso. A nivel general, podemos decir que la citogenética es el estudio de los cromosomas y su relación con enfermedades asociadas a alteraciones cromosomales numéricas y/o estructurales. Hoy en día, mediante una extracción procedente de la médula, se realizan ensayos citogenéticos, ya integrados como parte del diagnóstico clínico. [9]

El bandeo G en linfocitos de sangre periférica constituye la principal técnica en el estudio citogenético de cromosomas, muy empleado para detectar tanto anomalías cromosómicas numéricas como estructurales. Resulta muy útil, para la detección del cromosoma Filadelfia y para seguir el tratamiento del mismo. En la figura 2 se observa el cariotipo de un varón que presenta el cromosoma Filadelfia. [6].

A pesar de las prestaciones de la citogenética convencional, existen una serie de desventajas en torno a las mismas. Entre ellas destaca la baja sensibilidad que presenta (entre 1-5% de células Ph⁺ en un mismo cultivo) y el retraso que acarrea su uso (debido a la punción medular pertinente y la separación de las células que deben encontrarse en metafase). [5]

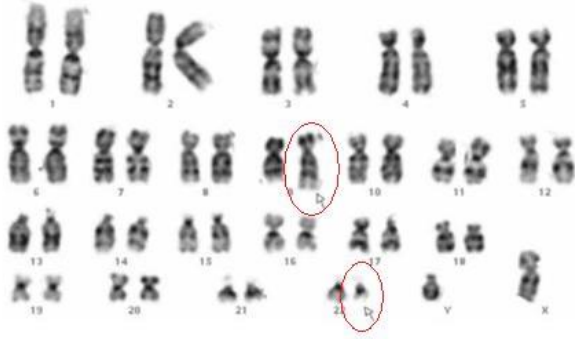


Fig. 2. Cariotipo obtenido mediante banedo G, de un varón que presenta el Cromosoma Filadelfia. En rojo se observa el cromosoma Ph (q22) y el cromosoma extralargo que se forma como resultado (q9).

3.2. Citogenética molecular: FISH y RT-PCR

La Hibridación In situ Fluorescente (FISH) ha demostrado ser de gran ayuda en la detección de variantes Ph complejas con tres o más cromosomas, además de que demuestra una alta sensibilidad (95-100%) para la detección del gen bcr/abl. Estas características han llevado al uso de FISH como técnica complementaria de las basadas en citogenética convencional, permitiendo así un estudio mucho más detallado y preciso de estas anomalías. De esta manera, el uso de FISH en células leucémicas permite que estas se encuentren tanto en metafase como en interfase, al contrario de la técnica anteriormente mencionada. Así, la técnica FISH se emplea en aquellos casos en los que las técnicas citogenéticas han dado resultados negativos, así como en aquellos casos en los que no se pueden obtener células en metafase. “[5], [6]”

La detección del cromosoma Filadelfia mediante FISH se basaría en la presencia de señales fluorescentes amarillas, resultado de la hibridación del gen ABL en rojo con el gen BCR en verde. [6]

4. TERAPIA: IMATINIB

En 1999 la empresa Novartis lanzó al mercado un fármaco conocido como imatinib, un revolucionario medicamento que permitía paliar esta enfermedad. El imatinib actúa inhibiendo el efecto del oncogen abl/bcr, presente en el cromosoma Filadelfia. La innovación que presentaba este fármaco en contraste a todos los probados anteriormente residía en que sólo atacaba a las células portadoras de la traslocación, llevando a la apoptosis de las mismas sin dañar las células normales; un verdadero logro que parecía imposible en tratamientos de cáncer. Sin embargo, el desarrollo del fármaco no fue fácil, pues hicieron falta varias pruebas para llegar a la conclusión de que la terapia antitumoral no podía realizarse únicamente con este medicamento, sino que era necesario un tratamiento conjunto, que englobara a Imatinib junto con los tratamientos quimioterapéuticos convencionales (ya que aquellos pacientes a los que se administró únicamente este fármaco, adquirieron resistencia al mismo debido a mutaciones). “[4], [5]”

Hasta la fecha no se había conseguido un fármaco como imatinib, que sólo atacara a las células Ph+. Concretamente, Imatinib impide la fosforilación de la tirosina quinasa, inhibiendo la proliferación de las células Ph+ e induciendo la apoptosis de las células leucémicas y tumorales, sin perjudicar a las células normales. Es decir, cuando uno de los principales oncogenes es inactivado, la célula cancerosa termina sufriendo apoptosis al no sobrevivir sin las señales que emite el oncogen, que gracias al fármaco, ha sufrido mutaciones. “[3], [4]”

Aun así, la administración de este medicamento debe realizarse en conjunto con los demás, en función de las necesidades y patologías de cada paciente, teniendo presente la posibilidad de que el enfermo requiera un trasplante de médula. Por ello, el tratamiento de cada paciente no sigue un patrón universal, y es el médico y los investigadores los que deberán determinar las dosis que se les va a administrar de cada fármaco.

5. CONCLUSIONES

Resulta increíble lo rápido que avanza la ciencia. Hasta hace apenas diez años, la LLA no tenía una cura establecida, y el hecho de presentar el cromosoma Filadelfia era pronóstico de muerte. El descubrimiento de Imatinib fue denominado como “cura milagrosa”, donde sorprendentemente no se dañaba a las células sanas. De esta forma, la detección temprana de la enfermedad (mediante el empleo específico de técnicas), junto con la administración de los adecuados tratamientos permite una vía de escape para esta enfermedad. No hay que olvidar que aunque el tratamiento resulte largo, tedioso y duro (pues, al fin y al cabo, se trata de un cáncer), se dispone de cura para ello, gracias a la labor científica de estos años atrás, que permitirá la completa remisión de aquellos pacientes con LLA Ph+. Así, la presencia de este cromosoma nunca más será sinónimo de muerte.

REFERENCIAS

- [1] Manuel Alfredo Ortega Sánchez, María Luisa Osnaya Ortega, José Vicente Rosas Barrientos, “Leucemia Linfoblástica Aguda,” Medigraphic Artemisa, México: pp.23:26-33, 2007
- [2] Web del Instituto Nacional del Cáncer. <http://www.cancer.gov>
- [3] Adele K. Fielding, “Current Treatment of Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia,” University College London, Current Management Issues in Acute Lymphocytic Leukemia, London: 2011, American Society of Hematology.
- [4] Christiane Dosne Pasqualini, “Tratamiento de la leukemia mielóide crónica con imatinib: Un caso de medicina traslacional,” SciELO, Buenos Aires: pp.70:293-296, 2010.
- [5] Tali Tohami, Arnon Nagler, Ninette Amariglio, “Laboratory Tools for Diagnosis and Monitoring Response in Patients with Chronic Myeloid Leukemia,” Isr Med Assoc J., Israel: pp. 14(8):501-7, Aug 2012.
- [6] M.L. Martín Ramos, F.J. Fernández Martínez, E. Barreiro Miranda, “Alteraciones cromosómicas en la leucemia linfoblástica aguda,” An Esp Pediatr, Madrid: pp. 55:45-52, vol.55 núm 01, Oct 2001.
- [7] Yaoyu Chen, Cong Peng, Con Sullivan, Dongguang Li,

Shaoguang Li, "Novel Therapeutic Agents Against Cancer Stem Cells of Chronic Myeloid Leukemia", *Anticancer Agents Med Chem*, National Institute of Health, University of Massachusetts Medical School, USA: pp.10(2): 111-115, Feb 2010

[8] Bianca Hemmeryckx, Anja Reichert, Meguru Watanabe, Vesa Kaartinen, Ron de Jong, Paul K Pattengale, John Groffen, Nora Heisterkamp, "BCR/ABL P190 transgenic mice develop leukemia in the absence of Crkl", *Oncogene*, USA: pp. 21(20): 3225-3231, May 2002 .

[9] Aru W.Sudoyo, Fransiska Hardi, "Cytogenetics in Solid Tu-

mors: Lessons from de Philadelphia Chromosome", Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Indonesia, Indonesia: pp. 43(1), Jan 2011.



Eva Cuéllar Vivero estudiante de 4º Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

Envejecimiento e Inmunosenescencia

Nuria López Pérez

Resumen— La inmunosenescencia es el deterioro progresivo que sufre el sistema inmune con la edad. Como otros sistemas funcionales, a medida que envejecemos, nuestro sistema inmune se deteriora y aumenta la posibilidad de contraer enfermedades inflamatorias o infecciosas, ya que este sistema no es capaz de mantener la homeostasis ni adaptarse a los cambios tan eficientemente. Esta pérdida funcional ocurre en los sistemas reguladores, que son el nervioso, el endocrino y el inmune. Como en el mantenimiento de la salud intervienen las células inmunitarias y la integración entre respuesta innata y adquirida, y viendo la actividad de estas células podemos ver el estado funcional del sistema inmune, usándolos como marcadores de salud.

La teoría más probable de inmunosenescencia, y por tanto de envejecimiento, parece ser la de oxidación e inflamación, de forma que controlar estos procesos es una forma de mantener la homeostasis y aumentar la longevidad del individuo.

Palabras Claves—Enfermedad, Envejecimiento, Inflamación, Inmunosenescencia, Oxidación.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente el envejecimiento es un problema presente en todo el mundo, especialmente en países desarrollados, donde la esperanza de vida es muy elevada. Los cambios que conllevan al envejecimiento son moleculares y celulares, que no afectan de igual forma a miembros de la misma población ni de la misma edad.

La edad biológica de un individuo puede no coincidir con la cronológica, pudiendo determinarse la primera en relación a parámetros inmunológicos. Es decir, una función adecuada de las células NK, los linfocitos T y los fagocitos son indicadores de una buena salud biológica y, por tanto, de longevidad [1].

2. ORIGEN DEL ENVEJECIMIENTO

La longitud de los telómeros o el límite de divisiones mitóticas son posibles explicaciones para la senescencia replicativa de las células o para los procesos de diferenciación, pero no para la base del envejecimiento. La mayoría

de las teorías existentes explican resultados del envejecimiento, pero no la causa del mismo.

Por lo tanto, la explicación que atrae más atención hasta el momento para explicar el envejecimiento es una teoría epigenética basada en la formación de radicales libres y compuestos oxidantes, como las especies reactivas de oxígeno (ROS: *Reactive Oxygen Species*), en nuestras células. La reactividad de estos compuestos causa la acumulación de daños, de forma directa, en diversas biomoléculas, la muerte celular y el envejecimiento. Para evitar estos problemas, el organismo ha desarrollado mecanismos antioxidantes para combatir estas especies reactivas o evitar su formación, de forma que la función de nuestro organismo depende del equilibrio entre ambos procesos. Éstos son síntesis de oxidantes y antioxidantes, ya que los ROS y los radicales libres son necesarios para algunos procesos fisiológicos vitales. Si se pierde el equilibrio, se produce estrés oxidativo crónico, produciéndose por lo tanto el envejecimiento [1].

Sin embargo, otra teoría reciente más precisa del origen del envejecimiento ha postulado que el sistema inmune juega un papel esencial en el mecanismo de regulación de esta senescencia [1].

El envejecimiento está relacionado con el deterioro de diversos sistemas, entre el que está el sistema inmune, siendo cada vez menos resistente a infecciones y aumentando el riesgo de sufrir procesos autoinmunes y cáncer [1], [2]. De hecho, a partir de los 70 años aproximadamente se mantiene el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y cáncer, y aumenta el riesgo de padecer enfermedades infecciosas que pueden llegar a causar la muerte del individuo [1]. Con respecto al cáncer, muchos de ellos tienen como factor de riesgo fundamental la edad, ya que al disminuir la vigilancia del sistema inmune contra las células cancerígenas aumenta el riesgo de padecerlo en los ancianos [3]. En relación a las enfermedades infecciosas, se ha visto que es el principal motivo de muerte en personas de avanzada edad, ya que no son capaces de defenderse ante patógenos nuevos, y la respuesta ante tratamientos o vacunas es ineficaz. Se produce porque el sistema inmune conserva la capacidad de responder ante patógenos conocidos, pero no son capaces de desarrollar respuestas primarias ante antígenos desconocidos [4]. Un ejemplo es el virus de la influenza, el mayor problema entre la gente mayor en países industrializados. Aproximadamente entre el 75 y el 90% de las muertes anuales en Estados Unidos ocurren en personas mayores de 65 años, debido a una disminución de la respuesta ante este virus [2], [4].

Estas enfermedades anteriormente mencionadas se deben a que a medida que se envejece, los componentes del sistema inmune se dañan, sufren reestructuración, así como cambio en la funcionalidad y en la interacción entre ellos. Este deterioro del sistema inmune es lo que se denomina **inmunosenescencia** [1], [4], que se caracteriza por una disminución de la función de linfocitos T, sobre todo los Th, afectando de esta forma a la inmunidad humoral y a la función de los linfocitos B. Sin embargo, la reestructuración que se ha citado anteriormente no siempre conduce a un detrimento de la funcionalidad de las células del sistema inmune, sino también a un incremento de algunos tipos o el mantenimiento de otros. Las células Treg, por ejemplo, mantienen su funcionalidad y aumentan en número, lo que hace que aumente la actividad supresiva en el anciano.

Los cambios más estudiados en relación al deterioro del sistema inmune son aquellos que ocurren a nivel de los linfocitos, no tanto a nivel de la respuesta innata [1].

2.1 Integración del Sistema Inmune

Las células NK son células mediadoras de la respuesta innata, y muestran una actividad citotóxica disminuida con la edad, así como la disminución de la secreción de citoquinas (moléculas producidas por células del sistema inmune que regulan la actividad celular), y un aumento en número [1], [4].

Por otro lado, las células fagocíticas disminuyen su función, pero no parecen ser los tipos celulares determinantes en el proceso de envejecimiento. Sin embargo, la disminución en la funcionalidad de estas células parece ser la responsable directa del aumento de la vulnerabilidad del organismo ante virus y bacterias, causas principales de enfermedad y muerte en la senescencia del individuo

[1]. Dentro de las células fagocíticas, comentaremos la relación de la inmunosenescencia con los neutrófilos, un tipo de leucocito [2].

Los neutrófilos con la edad alteran la expresión de moléculas de superficie, como las implicadas en la adhesión celular, lo que afecta a las funciones de estas células para combatir el patógeno. Esto nos lleva a que el deterioro del sistema inmune está relacionado con una disminución funcional de estas células. Moléculas implicadas en quimiotaxis también se expresan en menor medida en los neutrófilos. Estos dos defectos producen que los neutrófilos no sean capaces de pasar de la sangre al foco de infección, y por lo tanto la respuesta inmune no sea efectiva. Además, aunque puedan llegar al foco de infección, la expresión de receptores de fagocitosis también puede verse alterada, disminuyendo así la habilidad de estas células para fagocitar el patógeno y acabar con él [2].

Además, se producen defectos a nivel de la actividad de macrófagos en determinados órganos, así como un detrimento en número, y un aumento de citoquinas proinflamatorias por células mononucleares [4].

Lo comentado anteriormente corresponde a la inmunidad innata, pero el sistema inmune trabaja coordinadamente a través del sistema inmune adaptativo y el innato, por lo que cualquier deterioro en alguno de ellos repercutirá en el otro.

En lo referente a la respuesta inmune adaptativa, cualquier fallo en la presentación del antígeno a los linfocitos T, debido a la edad, en las células presentadoras de antígeno (APCs) puede influir en la respuesta de ese tipo celular. También se produce en la inmunosenescencia un aumento de linfocitos T de memoria en relación con linfocitos T novatos, lo que conlleva a una disminución de la función inmune de forma drástica, ya que hay muchos linfocitos capaces de responder ante enfermedades recurrentes pero no ante nuevas infecciones [1]. En los ancianos se disminuye la expansión clonal, es decir, la capacidad de los linfocitos para dividirse, lo cual es la base de la memoria inmunológica [3].

Un mecanismo susceptible de ser esencial en la disfunción del sistema inmune es a nivel de las células dendríticas, un tipo de célula presentadora de antígeno. Estas células están relacionadas con la respuesta anómala predominante de Th2 en lugar de Th1. Este cambio, junto con una variación en el perfil de citoquinas excretadas, está relacionado con una disfunción del sistema inmune en el envejecimiento.

Sin embargo, en el envejecimiento no solo el sistema inmune está dañado, sino que también lo están los sistemas nervioso y endocrino, es decir, los sistemas reguladores. Es el llamado "sistema inmune-neuroendocrino", encargado de mantener la homeostasis y, por tanto, preservar la salud del individuo. De esta forma, daños en el sistema inmune producen estrés oxidativo e inflamatorio, afectando a los otros sistemas reguladores, pudiendo acelerar el proceso de envejecimiento. Un ejemplo de esta relación es la respuesta del sistema inmune ante cambios en el nivel de neurotransmisores. El nivel de neurotransmisores

res no varía con la edad, pero sí la capacidad de las células del sistema inmune ante ellos [1].

2.2 Células inmunitarias como marcador de salud

Como se explicó anteriormente, la función de las células del sistema inmune puede darnos una idea de funcionamiento de este sistema, pudiendo usarse como un marcador para saber la edad biológica del individuo, y por lo tanto de la longevidad del mismo.

Lo que se pretende por lo tanto es buscar algunos parámetros inmunológicos, como el nivel de alguna citoquina, que puedan darnos una idea del funcionamiento del mismo. Son los denominados "biomarcadores", útiles para saber la edad real del individuo, ya que la edad biológica es mucho más precisa que la cronológica. Se han estudiado diferentes parámetros relacionados con linfocitos, fagocitos y células NK, como se puede observar en [1].

Se supo tras los estudios que el envejecimiento conlleva los siguientes cambios: disminución de la proliferación linfocítica, actividad NK (encargada de protegernos frente a cáncer), síntesis de IL-2 (una citoquina) y quimiotaxis, fagocitosis y nivel adecuado de ROS en fagosomas. Pero también se aumentan algunos procesos, como la liberación de anión superóxido y citoquinas proinflamatorias como TNF α .

Para denominar biomarcadores a estos parámetros es necesario que estén en mayor nivel en personas mayores. Para un estudio más exacto se usan ratones como modelos animales de senescencia prematura. Además, para determinar la función del sistema inmune en la salud y la longevidad, es necesario que la función inmune se conserve en individuos envejecidos y en jóvenes de forma parecida. Esto se ha mostrado tanto en ratones como en humanos. Los resultados de los estudios confirmaron que el estado del sistema inmune es un buen marcador de la edad biológica del individuo [1].

3. ORIGEN DE LA INMUNOSENESCENCIA

Se ha demostrado que la inmunosenescencia se crea como la senescencia de cualquier tipo celular del organismo, por los ROS, producto del consumo del oxígeno por las células. Es la denominada "teoría de la oxidación - inflamación".

Las células inmunitarias necesitan crear radicales libres y especies reactivas destinadas a desempeñar las funciones defensivas del organismo, lo que las hace sensibles al daño oxidativo. Por lo tanto, las células tienen que mantener un equilibrio entre la producción de compuestos oxidantes y antioxidantes para evitar el daño por efecto de los primeros, siendo esta acción esencial para mantener la capacidad inmunitaria. En el mantenimiento del equilibrio se crean también moléculas anti-inflamatorias, ya que el exceso de radicales libres producidos por la célula puede desencadenar respuestas inflamatorias, y los radicales libres son moléculas efectoras de inflamación. Esto se demuestra porque algunas enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como la arteriosclerosis, no está

relacionada solo con un proceso oxidativo, sino también inflamatorio. El incremento de moléculas relacionadas con la inflamación está ligado con aspectos de la inmunosenescencia, siendo esencial para la función inmune tanto el balance de componentes pro-inflamatorios como anti-inflamatorios [1].

4. CONCLUSIONES

Con todo lo comentado anteriormente, parece ser que la teoría más probable para explicar el envejecimiento es aquella basada en la teoría de la oxidación e inflamación. A medida que envejecemos, se va produciendo estrés oxidativo que afecta a todas las células del organismo, sobre todo a las relacionadas con sistemas reguladores en general, ya que sufren el mayor daño oxidativo de todos los sistemas. Como resultado de este estrés, no se mantiene el equilibrio redox ni la homeostasis, y conduce en última instancia a la muerte del individuo. En particular, el sistema inmunológico crea compuestos oxidativos e inflamatorios para defender el organismo, de forma que tienen que contrarrestar estos niveles produciendo asimismo sustancias antiinflamatorias y antioxidantes. El equilibrio entre estos dos procesos es lo que determinará que el organismo pueda mantener la homeostasis. Si estos procesos se descontrolan, se pueden formar compuestos nocivos, por diferentes factores como NF-kB, que pueden llevar a mantener el estrés oxidativo crónico en el resto de células del organismo.

Por lo tanto es evidente que el sistema inmune juega un papel crucial en la desregulación de los procesos inflamatorios y oxidativos, que conllevan al envejecimiento. De esta forma, cuidando nuestro estilo de vida, como llevando a cabo una nutrición sana o realizando ejercicio físico, ayudamos a mantener el equilibrio para preservar la función inmune y así mejorar nuestro estilo de vida y aumentar la longevidad [1].

REFERENCIAS

- [1] Mónica De la Fuente, "Role of the immune system in aging". *Immunología*, vol. 27, no. 4, pp. 176-191, Oct/ Dec 2008.
- [2] Stephen K. Butcher, Keqing Wang, David Lascelles and Janet M. Lord, "Neutrophil Ageing and Immunosenescence". *The Neuroendocrine Immune Network in Ageing*, pp. 41-55, 2004. Elsevier.
- [3] Graham Pawelec, Evelyn Derhovanessian, Anis Larbi, "Immunosenescence and cancer". *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 75, pp 165-172, 2010. Elsevier.
- [4] Lia Ginaldi, Maria Francesca Loreto, Maria Pia Corsi, Marco Modesti, Massimo De Martinis, "Immunosenescence and infectious diseases". *Microbes and Infection*, 3, pp. 851-857, 2001. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.



Nuria López Pérez, estudiante de 4º curso de Grado en Biotecnología.

Siameses artificiales: un estudio de envejecimiento y neurogénesis

Lourdes Riquelme Domínguez

Resumen— Una de las consecuencias más importantes del envejecimiento, desde el punto de vista neurológico, es la disminución drástica de la neurogénesis, debido a la caída en el número de células madre neuronales. Sin embargo, mediante la exposición a factores transportados en la sangre, es posible inhibir o promover la neurogénesis adulta, viéndose modificada la plasticidad neuronal y, por tanto, la respuesta de los individuos a pruebas de condicionamiento, aprendizaje espacial o memoria. Los experimentos realizados mediante parabiosis (o unión anatómica) de parejas de ratones de diferentes edades, parecen indicar que la disminución en la neurogénesis y las alteraciones cognitivas de los ratones puede deberse en parte a los cambios en los niveles de factores de transmisión sanguínea como las quimioquinas.

Palabras Claves— Envejecimiento, Neurogénesis, Parabiosis, Quimioquinas.

1. INTRODUCCIÓN

La neurogénesis adulta ocurre en nichos concretos del hipocampo. Este proceso estaría mediado por señales que conducirían a la producción de nuevas neuronas y a la integración de éstas en neurocircuitos preexistentes del cerebro, lo que está directamente relacionado con los procesos de aprendizaje y memoria. Estos nichos están rodeados de vasos sanguíneos, que permitirían su comunicación con el resto del organismo. Surge por tanto la hipótesis de partida de la investigación llevada a cabo en la Universidad de Stanford, según la cual la neurogénesis podría estar modulada tanto por factores intrínsecos al Sistema Nervioso Central (SNC), como por otros extrínsecos que llegarían a él vía sistema circulatorio, como los derivados de cambios sistémicos a nivel molecular producidos por el envejecimiento.

2. PARABIOSIS COMO MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

La parabiosis consiste en la unión quirúrgica de parejas de animales, tradicionalmente ratones o ratas, en la que ambos individuos se encuentran además vinculados por sus sistemas circulatorios, de forma que se intercambian los componentes que son transportados en él como hormonas u otros factores [1].

En la investigación capitaneada por Tony Wyss-Coray, en primer lugar se comprobaron las alteraciones neurológicas que tienen lugar en el hipocampo en un grupo de ratones envejecidos, confirmándose la disminución radical de la neurogénesis y el aumento de la neuroinflamación con la edad. Por otra parte, también se caracterizaron deficiencias en la plasticidad sináptica, siendo esta la posibilidad de modificar las conexiones sinápticas y redes neuronales en número, forma y función. Estas modificaciones, que ponen de manifiesto el dinamismo del Sistema Nervioso, pueden darse como respuesta a situaciones fisiológicas o como consecuencia de lesiones, pero también se producen reorganizaciones como resultado de procesos de aprendizaje y memoria [2]. Mediante pruebas de aprendizaje espacial, se comprobó la merma de la función cognitiva durante el envejecimiento [3].

Realizadas estas comprobaciones, se investigó la contribución de los factores sistémicos periféricos a la disminución en la neurogénesis del hipocampo relacionada con la edad. De esta forma, se realizaron parabiosis de parejas isocrónicas (ratones joven-joven y viejo-viejo) y heterocrónicas (ratones joven-viejo) como se muestra en la Figura 1.

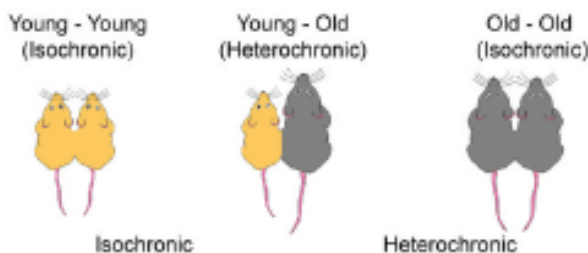


Fig. 1. Esquema de los emparejamientos.

De esta forma, se observó el aumento en la tasa de aparición de nuevas neuronas en los parabiontes viejos unidos a individuos jóvenes y viceversa. Mediante el uso de animales transgénicos que expresaban la proteína verde fluorescente (GFP) en células sanguíneas, se comprobó que había intercambio vascular entre las parejas. Sin embargo, estas células marcadas no llegaban a alcanzar el Sistema Nervioso Central, ¿cómo entonces podían tener una respuesta en el cerebro los cambios sistémicos derivados del “envejecimiento” de la sangre?

Para comprobar si otros factores disueltos en el plasma sanguíneo tenían esta capacidad de provocar cambios en el SNC, se aisló plasma de individuos jóvenes y se inyectó vía intravenosa en individuos adultos. Al hacer lo propio con el plasma de individuos viejos e inyectándolo en ratones adultos, se obtuvieron los resultados esperados: la neurogénesis se veía afectada negativamente en individuos que habían recibido plasma sanguíneo envejecido, mientras que se incrementaba en los individuos que habían recibido la transfusión de plasma joven, indicando que factores solubles en el plasma estaban afectando a los

procesos que tienen lugar en el Sistema Nervioso Central. Al confirmar estos resultados con test de comportamiento en los ratones que habían sido inyectados, se obtuvo lo siguiente: los ratones que habían recibido plasma joven no presentaban cambios con respecto al grupo control. Sin embargo, los ratones que habían recibido plasma de individuos viejos, demostraron grandes deficiencias para aprender y memorizar lo aprendido.

Colectivamente, estos datos indican que los factores presentes en la sangre envejecida inhiben la neurogénesis adulta, y además contribuyen a las alteraciones en la función cognitiva.

Mediante técnicas de proteómica se realizó una búsqueda de los factores concretos que estaban causando estos efectos, llegándose a identificar una serie de factores con la quimiquina CCL11 a la cabeza. Una vez identificada, se realizaron ensayos administrando a ratones adultos dicha citoquina, obteniendo como resultado la disminución esperada de la neurogénesis, así como las deficiencias cognitivas en los ratones tratados.

3. CONCLUSIONES

El trabajo de los científicos de la Universidad de Stanford y sus colaboradores tiene una importante relevancia tanto para el área de conocimiento de la Neurociencia como para la Inmunología. Las implicaciones en la primera son directas: estudios posteriores podrán ahondar en los resultados aquí obtenidos, pudiendo caracterizarse otros factores que afecten al envejecimiento del Sistema Nervioso Central, o incluso, otros factores que tengan capacidad "rejuvenecedora", aumentando la neurogénesis lo que podría ser de enorme relevancia en la investigación de enfermedades neurodegenerativas.

Por otra parte, desde el punto de vista de la Inmunología, este trabajo complementa otro anterior en el que se relaciona la neurogénesis con dos tipos de células inmunes en la sangre. El hecho de que procesos acaecidos en el Sistema Nervioso Central puedan verse modulados desde fuera por factores que viajen en la sangre y atraviesen la barrera hematoencefálica es trascendental. Estos estudios abren la puerta a posibles tratamientos con señales propias del sistema inmunológico. La importancia de poder tratar el Sistema Nervioso Central desde la sangre es evidente ya que ésta es mucho más accesible que el cerebro.

4. AGRADECIMIENTOS

La autora desea agradecerle a la clase de cuarto curso de Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide su colaboración, así como su apoyo incondicional.

REFERENCIAS

- [1] G. G. Berntson and J. T. Cacioppo, Handbook of Neuroscience for the behavioral sciences, volume 2. John Wiley & Sons, p. 673, 2009.
- [2] E. Bustamante-Zuleta, El sistema nervioso, desde las neuronas hasta el cerebro humano. Editorial Universidad de Antioquia, p. 97, 2007.
- [3] S. A. Villeda et al., "The aging systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function," Nature, no. 477, pp. 90-94, Sept 2011, doi:10.1038/Nature.2011.10357.



Lourdes Riquelme Domínguez estudia el Grado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide, encontrándose en el cuarto y último año de la titulación. Ha realizado estancias prácticas en laboratorios de Neurociencia en diferentes instituciones como el departamento de Fisiología de la Universidad Pablo de Olavide, el Instituto Alfred Fessard del CNRS o el Instituto de Biomedicina de Sevilla. Actualmente forma parte de la organización de la séptima edición del Biotech Annual Congress 2013 que será celebrado en Sevilla, siendo la Coordinadora del Programa Científico del Congreso.

La compatibilidad sexual y los complejos de histocompatibilidad

Magali M. A. De Koninck

Resumen— En muchas especies del reino animal la genética juega un importante papel en la selección de individuos para el apareamiento, a diversos niveles. En un número anterior de la revista MoleQla, vimos qué eran los complejos de histocompatibilidad y qué funciones cumplían dentro de un organismo. En este artículo veremos que los MHC son uno de los factores que pueden influir en la selección de pareja.

Palabras Claves— Complejo, Diversidad, Disimilitud, Histocompatibilidad, Pareja.



1. INTRODUCCIÓN

Los complejos de histocompatibilidad (MHC) son proteínas de membrana que juegan un papel fundamental en el funcionamiento correcto del sistema inmunitario de vertebrados, por ejemplo mediando el reconocimiento de proteínas patógenas o la selección negativa de células capaces de reconocer autoantígenos. También son conocidos por ser el factor clave para el éxito de los transplantes.

Existe la teoría de que los animales tienen preferencia por individuos del sexo opuesto que presenten pocas similitudes en cuanto a sus MHC. El aumento de la diversidad podría significar que la descendencia tendrá un mayor poder de reconocimiento de organismos invasores, y por tanto, una respuesta inmune eficaz contra ellos.

A pesar de los numerosos estudios llevados a cabo sobre el tema, a día de hoy existe relativamente poca evidencia sobre el asunto. Sin embargo, la teoría se ha visto confirmada para múltiples vertebrados, incluyendo peces, reptiles, aves y roedores. En los estudios humanos aún se encuentran algunas incongruencias. [1]

2. DIVERSIDAD Y DISIMILITUD

No solo es importante la gran diversidad y heterocigosidad dentro de los alelos de un mismo individuo, sino que la elección también está influida por la disimilitud entre ambos miembros de la pareja. [1]

Los MHC pertenecen a una familia multigénica (de aproximadamente 50 genes integrantes) extremadamente polimórfica. [2] Hay múltiples genes que expresan MHC de forma codominante, por lo que una gran diversidad alélica de estos genes confiere al organismo portador la capacidad de reconocer un amplio rango de moléculas patógenas y presentarlas a los linfocitos T. Esto se cumple sobre todo cuando la heterocigosidad en los alelos está asociada a una buena calidad individual.

De este modo, la selección de pareja basada en MHC genera beneficios desde dos perspectivas. Por un lado, el individuo será más inmunocompetente por sí mismo, lo cual permitirá cuidar mejor a su descendencia y reduce la probabilidad de enfermar y, por consiguiente, contagiar. Por otro lado, la heterocigosidad y disimilitud en los parentales contribuyen a mantener altos los niveles de polimorfismo en los loci codificantes para MHC a lo largo de las generaciones. Podría ser también un posible mecanismo para evitar la endogamia y los defectos genéticos que esta conlleva.

En humanos, los alelos de MHC presentaban mayores diferencias entre individuos emparejados de lo que cabría esperar al azar en algunas poblaciones aisladas, a diferencia del resto de los alelos a nivel genómico. Esto demuestra que la preferencia a la disimilitud es específica para

los MHC. [1]

Como curiosidad, una gran similitud alélica de MHC entre dos personas está relacionada con una mayor insatisfacción dentro de la pareja, menor responsividad sexual y una tendencia a la infidelidad. Además, en la época fértil del ciclo de las mujeres se ha observado que estas se sienten más atraídas hacia segundas personas. [1][3]

3. MARCADORES DE HETEROCIGOSIDAD

Se ha estudiado que las personas (especialmente las mujeres) eligen a la mejor pareja desde el punto de vista inmunológico porque su heterocigosidad está asociada a ciertos marcadores, que traducen la diversidad genotípica a un perfil sensorial. Entre los marcadores asociados a la calidad inmunológica podemos encontrar el olor corporal o rasgos faciales atractivos, por ejemplo. [1][4]

El genotipo de un individuo determina las señales quimiosensoriales que emite. Así, cada persona tiene un perfil olfativo característico que tendrá un efecto particular sobre los individuos de su entorno. [2] En algunos tests olfativos, las mujeres mostraban preferencia a los olores asociados a una elevada heterocigosidad en los alelos codificantes para MHC. Esto variaba según el contexto, siendo la influencia de los MHC más notable cuando la intención era buscar una pareja a largo plazo.

En los tests de atractivo facial, los hombres mostraban preferencia hacia las facciones de mujeres cuya combinación alélica presentaba disimilitud con respecto a la suya. Esto era más marcado en comparación con la disimilitud a nivel del genoma completo. [1]

Los MHC también influyen en las señales químicas presentes en la orina. Curiosamente, en ratones, las hembras retienen en su memoria detalles quimiosensoriales de su pareja, y la falta de reconocimiento de señales en la orina de un macho desencadena un mecanismo fisiológico de bloqueo de embarazo. Esta es otra particular forma de intuir la calidad inmunológica de la pareja y asegurar así una descendencia aventajada. [4]

5. CONCLUSIONES

Se han encontrado evidencias que muestran que las combinaciones alélicas de los loci de MHC tienen un efecto en la selección de pareja, y sabemos que tanto la diversidad como la disimilitud tienen importancia. Los complejos de histocompatibilidad son, hasta ahora, los principales candidatos capaces de explicar las bases genéticas y, en especial, inmunológicas, de la selección de pareja en vertebrados.

Sin embargo, aún no se ha dilucidado del todo la influencia de los loci de MHC en las preferencias de emparejamiento, los distintos contextos que pueden influir en esta selección, la señalización sensorial entre individuos y los otros posibles factores que intervienen. Con frecuencia se han obtenido resultados inconsistentes en diversos estudios realizados en poblaciones y escalas diferentes, por lo que se requieren más estudios que muestren tendencias inequívocas y reproducibles.

Asimismo, muchos de los experimentos se llevan a cabo en un contexto de laboratorio y basan sus resultados en preferencias más que verdaderas elecciones de pareja, por lo que se requerirá investigación más extensa para entender los mecanismos que promueven la generación de desdendencia inmunocompetente.

REFERENCIAS

- [1] H. C. Lie, L. W. Simmons y G. Rhodes, "Genetic dissimilarity, genetic diversity, and mate preferences in humans," *Evolution and Human Behavior* 31 (2010) 48-58 doi:10.1016/j.evolhumbehav.2009.07.001.
- [2] P. A. Brennan, "The nose knows who's who: chemosensory individuality and mate recognition in mice," *Hormones and Behavior* 46 (2004) 231-240 doi:10.1016/j.yhbeh.2004.01.010.
- [3] C. E. Garver-Apgar, S. W. Gangestad, R. Thornhill, R. D. Miller y J. J. Olp, "Major histocompatibility complex alleles, sexual responsiveness, and unfaithfulness in romantic couples," *Psychological Science* 17 (Oct 2006) 830-835
- [4] T. Boehm y F. Zufall, "MHC peptides and the sensory evaluation of genotype," *Trends in Neurosciences*, Vol. 29, No. 2 (Febrero 2006), 100-107 doi:10.1016/j.tins.2005.11.006.



Magali M. A. De Koninck
Biotecnología

Selección de nanocuerpos mediante un sistema de dos híbridos en bacterias

Antonio Torres Méndez

Resumen— La sociedad reclama hoy día nuevas formas de producir anticuerpos monoclonales de forma eficiente para su uso en múltiples aplicaciones. Un tipo de fragmento de estos anticuerpos, bautizados como nanocuerpos, se producen en la actualidad con notable éxito y se están desarrollando diversas estrategias para mejorar sus propiedades y su selección. En este artículo vemos un ejemplo que aporta grandes ventajas: la selección mediante un sistema de dos híbridos en bacterias.

Palabras Claves— Anticuerpos, doble híbrido, inmunología, nanocuerpos, selección-intracelular.

1. INTRODUCCIÓN

La historia de la inmunología va dada de la mano de la de los propios anticuerpos desde su descubrimiento y caracterización a finales del s. XIX. Décadas después, Milstein y Köhler descubren los anticuerpos monoclonales, lo que abrió las puertas a la obtención de cantidades ilimitadas de un anticuerpo concreto con especificidades precisas y les sirvió a sus autores para obtener el premio Nobel en 1984.

Es indudable el gran interés que despierta su producción, ya que suponen una herramienta muy poderosa para el tratamiento de enfermedades, el diagnóstico, la detección y la investigación. Para ello, se están desarrollando diferentes tecnologías que permitan seleccionarlos

y mejorar su afinidad, estabilidad y niveles de expresión [1].

2. NANOCUERPOS

2.1. Qué son

Los nanocuerpos son fragmentos de anticuerpos consistentes en un único dominio variable, que es capaz de unirse específicamente a un determinado antígeno.

Se identificaron por primera vez en camélidos, cuyos anticuerpos tienen una estructura ligeramente diferente a los de humanos. En la figura 1 podemos observar la estructura de una inmunoglobulina G convencional, la de su cadena pesada y por último la de su dominio variable, el N-terminal (VHH o nanocuerpo) [2].

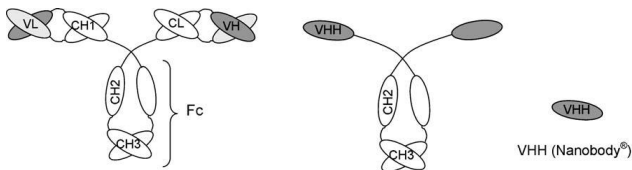


Fig. 1. Estructura molecular de donde proceden los VHH.

Estos nanocuerpos o anticuerpos de dominio único son proteínas de bajo peso molecular (12-15 kDa) codificadas por un único exón y compuestas por unos 110 aminoácidos. Entre sus propiedades físicas deseadas están la alta estabilidad y afinidad por el antígeno [3].

2.2. Cómo obtenerlos

Las técnicas más extendidas para su producción son la presentación por fagos y ribosomas. Ambos métodos se basan en una selección *ex vivo*, lo que hace que muchas veces estos nanocuerpos no sean efectivos en ambientes reductores como el citoplasma.

Así surgen otras alternativas como la producción mediante sistemas de doble híbrido, tradicionalmente en levaduras. Esto evita tener que realizar una purificación posterior ya que facilita la selección.

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo sistema basado en bacterias, con la ventaja de un mayor crecimiento, la capacidad de distinguir entre distintos grados de unión y la posibilidad de usar antígenos eucarióticos que fuesen homólogos a proteína de levadura. Teniendo siempre en cuenta la incapacidad de las bacterias de realizar modificaciones postraduccionales como la glicosilación, aunque esto no suele suponer mayor inconveniente, gracias al uso de nanocuerpos [4].

3. SISTEMA DE DOBLE HÍBRIDO EN BACTERIAS

El procedimiento de obtención de VHHs comienza con la inmunización de dromedarios con el antígeno, el aislamiento de sus linfocitos, extracción de ARNm, PCR para genes de anticuerpos, y clonación en una genoteca (colección de células que contienen un fragmento de ADN diferente cada una) en *E.coli*, con fragmentos de inserto del tamaño medio de los VHH.

Los plásmidos procedentes de la genoteca se transforman en células receptoras que hacen posible el sistema de selección por doble híbrido. Este tipo de métodos se basa en la detección de una interacción específica entre dos proteínas. En este caso, se detecta mediante el crecimiento en un medio de selección adecuado.

Por un lado, el nanocuerpo de interés (que desconocemos cuál es a priori) está unido a una proteína activadora de la transcripción de un gen de resistencia a un compuesto de selección.

Por otro lado, tenemos el antígeno (el mismo con el que se inmunizó a los dromedarios) unido a la ARN polimerasa de la bacteria.

De esta forma, si existe interacción específica entre anticuerpo y antígeno, la ARN polimerasa será reclutada a

la zona del ADN para expresar el gen de resistencia gracias a la proteína activadora y la bacteria crecerá en un medio selectivo. El esquema podemos apreciarlo en la figura 2, donde el rombo representa el VHH de interés, λ Cl: la proteína activadora, el sector circular: el antígeno, RNAP: la ARN polimerasa y las flechas: la expresión del gen de resistencia. [4].



Fig. 2. Esquema de la selección por doble híbrido.

El sistema permite seleccionar así la especificidad entre nanocuerpo y antígeno simplemente seleccionando las bacterias que crezcan en un medio determinado.

Los diferentes ensayos utilizados tanto *in vivo* como *in vitro* demostraron las propiedades físicas satisfactorias que presentaban los anticuerpos codificados en los plásmidos de la genoteca que contenían las células que crecieron.

4. CONCLUSIONES

El sistema de doble híbrido en bacterias presenta ventajas palpables a la hora de producir VHHs: una selección rápida y simple, bajos niveles basales y el mantenimiento de la funcionalidad intracelular. Esto simplifica el proceso a la vez que abarata los costes, ya que de esta forma no es necesaria una etapa de purificación posterior durante el proceso de selección [4].

Es importante seguir trabajando en este nuevo campo prometedor, que ya va dando los primeros pasos hacia convertir en realidad las aplicaciones clínicas de los nanocuerpos.

REFERENCIAS

- [1] García Merino, A. "Anticuerpos monoclonales. Aspectos básicos". Neurología 2011; 26: 301-6 - vol.26 núm 05.
- [2] M. M. Harmsen & H. J. De Haard, "Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments". Appl Microbiol Biotechnol (2007) 77:13-22
- [3] "Single-domain antibody". Wikipedia, the free encyclopedia.
- [4] Conrath K. et al, "A bacterial-two-hybrid selection system for one-step isolation of intracellularly functional Nanobodies". Archives of Biochemistry and Biophysics 526 (2012) 114-123



Antonio Torres Méndez, estudiante de cuarto de Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Mejora nanotecnológica de inmunoensayos: nano-ELISA

Julio Manuel Ríos de la Rosa

Resumen—Los ensayos inmunológicos han adquirido una gran relevancia en el ámbito clínico para el cribaje y tratamiento temprano de enfermedades basados en la detección de diversos de marcadores moleculares. Una de las técnicas más acusadas es el ELISA, cuya alta sensibilidad y facilidad de uso la hacen idónea para este propósito. A pesar de que este tipo de inmunoensayo permite detectar pequeñas cantidades de biomarcador, la aplicación de la nanotecnología ofrece una plausible mejora en la sensibilidad de la técnica, dando lugar a una herramienta de diagnóstico más potente y rápida, pero igual de sencilla y económica.

Palabras Claves— Inmunología, Nanotecnología, Diagnóstico, ELISA, Sensibilidad.

1. INTRODUCCIÓN

El término nanotecnología se usa hoy en día para hacer referencia a la creación, el diseño y la manipulación de diversas estructuras a escala nanométrica [1]. El estudio de dichas estructuras multifuncionalizadas permite el desarrollo de múltiples aplicaciones en varios campos de interés, desde catálisis hasta la creación de novedosos sistemas de *drug delivery*. Uno de los nichos más ambiciosos para la nanotecnología es el ámbito biomédico, siendo el objetivo de la nanomedicina la utilización de las propiedades físico-químicas de las nanopartículas para diagnosticar y tratar diversas enfermedades a nivel molecular.

En el caso concreto del diagnóstico molecular se ha trabajado intensamente en la introducción de nanopartículas metálicas en técnicas clínicas comunes, con miras a mejorar la capacidad de detección de los marcadores implicados. Un ejemplo de ello es el ELISA, inmunoensayo en el que se pretende detectar moléculas específicas que se relacionen con una enfermedad determinada.

2. ELISA

2.1. Fundamento

El ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*), como su propio nombre indica, se basa en un ensayo inmunológico en fase sólida donde se produce la detección espectroscópica de un agente coloreado gracias al concurso de una enzima, la cual se encuentra asociada a un anticuerpo [2].

En la fase sólida se puede fijar tanto un anticuerpo como un antígeno específico en función del objetivo del ensayo. Si lo que se desea es conocer la exposición de un paciente a un virus, por ejemplo, se podrá adherir a la fase sólida un antígeno al cual se unirán los anticuerpos que éste hubiera desarrollado frente al patógeno en cuestión. Por el contrario, si se desea detectar una determinada molécula indicadora de una enfermedad se fijará un anticuerpo contra dicho marcador en la fase sólida, de forma que al

añadir la muestra procesada del paciente el antígeno se una a éste.

En el caso de uno de los ELISA más empleados, el ELISA “sándwich”, lo que se fija al soporte es un anticuerpo monoclonal dirigido contra un determinante antigénico de un biomarcador específico. Un anticuerpo secundario conjugado a una enzima se utiliza posteriormente para producir la señal colorimétrica en caso de unión al antígeno. Normalmente la enzima más usada es la peroxidasa de rábano (HRP), debido a su pequeño tamaño y elevada estabilidad [3].

En la figura 1 se pueden observar los pasos de un protocolo ELISA. Si la muestra que se analiza contiene el antígeno de interés, éste reaccionará de forma secuencial con los dos anticuerpos formando un “sándwich” entre la fase sólida y dichos anticuerpos. Al estar el anticuerpo secundario asociado a la enzima, la adición del sustrato correspondiente dará lugar o no a un cambio colorimétrico en función de la presencia o ausencia de antígeno.

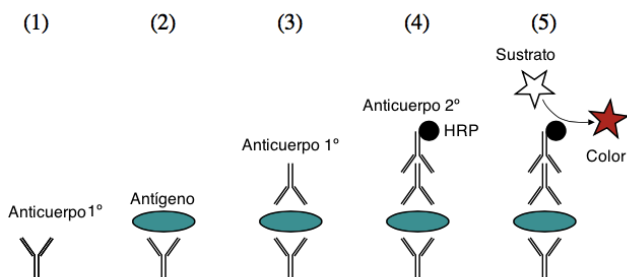


Fig. 1. Protocolo ELISA. (1) Anticuerpo primario fijado al soporte. (2) Adición de muestra y unión de antígeno. (3) Sándwich. (4) Unión de anticuerpo secundario asociado a enzima. (5) Producción de color por adición de sustrato en presencia de antígeno. Adaptado de [4].

2.2. Ventajas

El ensayo ELISA se caracteriza por poseer una elevada sensibilidad, ser fácil de usar y tener un bajo coste. Además, su sencillez le confiere gran portabilidad, de forma que se puede utilizar en lugares donde se sospeche un posible ataque biológico o un foco infeccioso.

En cuanto a la detección del antígeno, destaca por ser un ensayo tanto cualitativo como cuantitativo. Sumado a esto, la obtención de resultados es rápida y admite un amplio abanico de sustancias: hormonas, fármacos, toxinas, etc.

Por tanto, el ELISA se presenta como un ensayo altamente fiable y rápido para la detección de numerosos marcadores de interés.

2.3. Limitaciones

A pesar de las grandes ventajas del ensayo, la técnica no se ve exenta de limitaciones [5].

En primer lugar, la técnica está sujeta a posibles falsos positivos por la presencia de reacciones cruzadas entre anticuerpos y antígenos no específicos.

En el caso de que la molécula que se pretenda detectar sea un anticuerpo contra una infección, el resultado puede no ser fiable debido a que el paciente podría haber desarrollado pocos anticuerpos frente a ésta o no ser detectados en cantidad suficiente en sangre. Un caso bien conocido es el periodo ventana que existe para la detección del VIH.

Por último, es importante conocer el tiempo óptimo de la reacción colorimétrica, ya que los resultados pueden no ser fiables si la observación de color o medida por espectroscopía se realiza de forma prematura o tardía.

3. NANO ELISA

3.1. Fundamento

Las nanopartículas metálicas poseen propiedades electrónicas, estructurales, magnéticas y ópticas que las hacen idóneas para su aplicación en biosensores y bioensayos en general [1] [3].

En particular, las nanopartículas de oro (AuNPs) presentan interesantes propiedades ópticas como consecuencia de sus características de absorción y dispersión de luz en las longitudes de onda correspondientes al plasmón de resonancia. Del mismo modo, al poseer estas peculiaridades ópticas permiten un seguimiento de la unión de moléculas por técnicas analíticas alternativas [1].

Así pues, *Ambrosi et al.* (2010) han modificado un sistema ELISA comercial utilizando para ello nanopartículas de oro [3]. El fundamento de la técnica permanece intacto, si bien se modifica el último paso del anticuerpo secundario, que en vez de añadirse libre se conjuga a dichas nanopartículas metálicas. Esta conjugación se produce bien por interacciones electrostáticas entre las partículas car-

gadas negativamente con los anticuerpos con carga positiva, o bien por interacciones hidrofóbicas [3].

El hecho de que la nanopartícula pueda actuar como *carrier*, captando varios anticuerpos asociados a enzima HRP (figura 2) permite que a la hora de unirse al antígeno se produzca una amplificación de la señal colorimétrica, previa adición del sustrato.

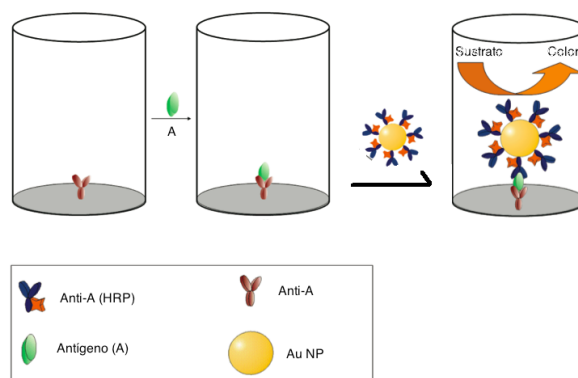


Fig. 2. Nano-ELISA. Se observa un pocillo con un anticuerpo fijado contra un antígeno. En el siguiente paso se produce un reconocimiento por los anticuerpos asociados a la nanopartícula, que en presencia de sustrato dan lugar a color. Adaptado de [3].

3.2. Comparación con el ELISA convencional

Para comparar la mejora con respecto al ELISA comercial, se procedió a la detección del antígeno CA15-3 (relacionado con el cáncer de mama) a partir de muestras de pacientes purificadas, con resultados sorprendentes [3].

Se comprobó que en el caso del nanoconjugado como mediador de la reacción colorimétrica se obtuvieron mayores señales (manteniendo además baja la señal no específica) con respecto al test sin modificar, llegando a ser prácticamente el doble de sensible con respecto a este último.

Por otro lado, el tiempo necesario para el desarrollo óptimo de la coloración pasó de 30 a 5 minutos gracias a la intervención de las nanopartículas de oro en el ensayo, consecuencia del incremento de actividad enzimática del nanoconjugado.

En último lugar, el ensayo modificado con los nanoconjugados permitió la detección de concentraciones significativamente más pequeñas de marcador frente a las detectadas por el ELISA convencional.

4. CONCLUSIONES

La introducción de anticuerpos asociados a nanopartículas metálicas mejora de forma sobresaliente la eficacia de los ensayos ELISA comerciales, dando lugar a un sistema con una mayor sensibilidad, que permite la detección de una concentración menor de moléculas y en un tiempo reducido.

Sumado al hecho de que no implica una modificación en el protocolo del ensayo ni en su coste, hace posible el seguimiento de la unión de antígenos por otras técnicas alternativas, como puede ser la espectroscopía UV-Visible. Por tanto, es una mejora deseable en cualquier técnica de diagnóstico que se precise, ya que ofrecerá unos resultados más fiables y rápidos que los de un test ELISA convencional, además de poseer gran versatilidad.

En definitiva, la nanotecnología se muestra como aliada para la mejora de este ensayo inmunológico, lo cual adquiere especial relevancia en aquellos casos en que la decisión médica deba estar basada en los resultados del análisis de biomarcadores. Sería muy interesante comprobar si esta mejora en la eficacia tiene lugar en otras técnicas inmunológicas de interés.

REFERENCIAS

- [1] Monsky, Wayne L.; Vien, Derek S.; Link, Daniel P. (2011) "Nanotechnology Development and Utilization: A Primer for Diagnostic and Interventional Radiologists". *RadioGraphics*, 31:1449-1462.
- [2] Postmann, T.; Kiessig, S. T. (1992) "Enzyme immunoassay techniques: An overview". *Immunol. Methods*, 150: 5-21.
- [3] Ambrosi, Adriano; Airò, Federico; Merkoçi, Arben (2010) "Enhanced Gold Nanoparticle Based ELISA for a Breast Cancer Biomarker". *Anal. Chem.* 82: 1151-1156.
- [4] Imagen de la Web de Wikipedia Commons <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons> (Enlace web)
- [5] Web del Howard Hughes Medical Institute (HHMI). <http://www.hhmi.org/biointeractive/vlabs/immunology> (Enlace web).



Julio Manuel Ríos de la Rosa estudia el último curso de la Licenciatura en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide. (promoción 2008-2013). Forma parte del grupo de nanotecnología desde 2011, donde continúa colaborando este curso con una beca de colaboración concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. Su campo de interés es la nanomedicina, dedicándose a la síntesis, caracterización y modificación de nanopartículas con agentes antitumorales. Actualmente es presidente de la Asociación Biotecnólogos de Andalucía (AsBAn), que encabeza desde finales de 2010, y Coordinador General del VII Congreso de la Federación Española de Biotecnólogos (BAC2013).

Motivos CpG: prometedores potenciadores del sistema inmune

Daniel Enterría Morales

Resumen— La mayoría de las vacunas actuales en desarrollo se componen de subunidades de patógenos, tales como proteínas o péptidos recombinantes purificados, perdiendo parte de las características del organismo original. Por ello, entra en juego la necesidad del uso de adyuvantes en las vacunas, cuyo objetivo es mejorar la inmunogenicidad de los antígenos, y conseguir una mayor activación del sistema inmune. Entre ellos, se encuentran los oligodesoxinucleótidos CpG desmetilados, aún en desarrollo, que se asemejan al ADN de bacterias y virus, y que pueden ser administrados unidos a determinados *carriers*, como las nanopartículas. Además, se investiga su utilidad en el tratamiento del cáncer, de alergias, y de enfermedades infecciosas.

Palabras Claves— Adyuvante, CpG, Inmunoestimulación, Nanopartículas, TLR9 (Toll like receptor 9).

1. INTRODUCCIÓN

Los dímeros de 5'-citosina-guanina-3' (CpG) son motivos de ADN formados por estos dos nucleótidos unidos de forma contigua mediante un enlace fosfodiéster. Suelen encontrarse en el genoma en las denominadas *islas CpG*, regiones de, al menos, 200 pb, con una alta frecuencia de sitios CpG (porcentaje de G+C mayor de 50%) [1].

En mamíferos, la gran mayoría se localiza en los promotores de los genes, teniendo un papel esencial en la epige-

nética, al ser propensos a sufrir metilaciones en sus residuos de citosina, lo cual generalmente lleva consigo un silenciamiento génico [2]. Este fenómeno es llevado a cabo por enzimas como la ADN metiltransferasa (DNMT), y da lugar a un mecanismo esencial para la impronta genómica, la inactivación del cromosoma X, la supresión de elementos repetitivos o el silenciamiento de oncogenes, entre otros.

En microorganismos, a diferencia de mamíferos, todos los motivos CpG se encuentran desmetilados, y este hecho es detectado a veces por células del sistema inmune para alertar al organismo de la presencia de patógenos [3].

2. RECEPTORES TIPO TOLL (TLRs)

Los microbios que penetran la barrera epitelial y llegan a determinados tejidos, se encuentran con ciertas células del sistema inmune, entre las que se hallan macrófagos, mastocitos y células dendríticas inmaduras. Estas células se caracterizan por presentar, en su superficie y en la membrana de los endosomas, receptores *Toll-like* (TLRs) (Fig.1), en forma de homodímeros o heterodímeros, que reconocen partículas de agentes patógenos y, en consecuencia, inician la respuesta inflamatoria y la respuesta inmune adaptativa [4]. En la actualidad, se trabaja con

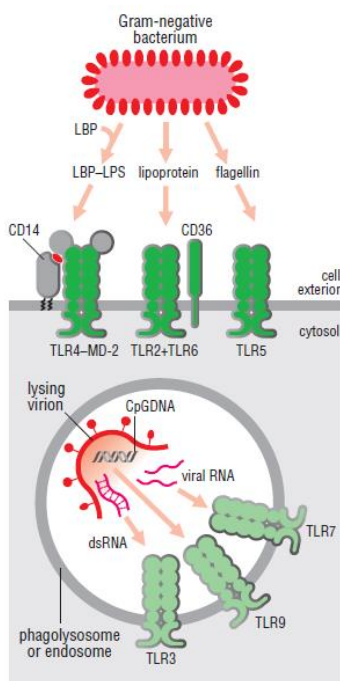


Fig. 1. Receptores de la familia de los TLRs, su localización celular, y los ligandos que reconocen [4].

agonistas de los TLRs como adyuvantes en las vacunas, siendo estos de muy diversa naturaleza (lipopolisacárido, flagelina, profilina, etc.), entre los que se incluyen los oligodesoxinucleótidos CpG no metilados [5].

2.1. El receptor TLR9

El receptor TLR9 se sitúa en la membrana de endosomas de macrófagos, células dendríticas plasmocitoides y linfocitos B (Fig.1), requiriendo la internalización del ligando para generar una cascada de señalización como respuesta. Se activa mediante el reconocimiento de ADN rico en motivos CpG no metilados, presente específicamente en bacterias y virus. Tras la unión con el ligando, la respuesta intracelular puede seguir dos vías, la vía que depende de la proteína MyD88 o la dependiente de la proteína TRIF. Como resultado, se activan dos factores de transcripción: el factor de transcripción nuclear κB (NF- κB) en la primera vía, y el factor regulador de interferón (IRF) en la segunda. Finalmente, a partir de estos factores se produce la expresión de citoquinas proinflamatorias e interferones tipo I, necesarios para la estimulación de la respuesta inmune innata y adaptativa (Fig.2) [6].

Este fenómeno hace que la aplicación de motivos CpG desmetilados para el tratamiento de enfermedades infecciosas, alergias, e incluso cáncer, sea muy prometedora.

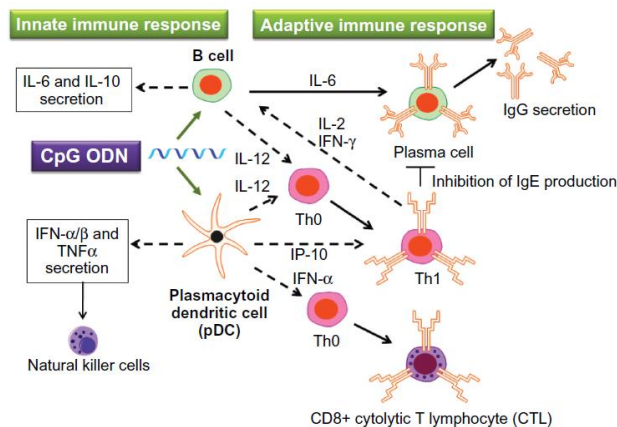


Fig. 2. Efectos de los CpG ODNs sobre las células del sistema inmune y los diferentes tipos de respuesta [3]. IL, Interleucina; IFN, interferón; TNF, factor de necrosis tumoral; Ig, inmunoglobulina; IP, proteína inducida por IFN- γ ; Th, linfocito T ayudante.

3. CPG ODNs COMO ADYUVANTES

Hasta la fecha, se han diseñado varios oligodesoxinucleótidos CpG (*CpG ODNs*) con el objetivo de potenciar la respuesta inmune a través de la activación de los receptores TLR9. Se ha podido observar que diferentes perfiles actúan en especies diferentes, dependiendo de las características estructurales de estos óligos, como por ejemplo la secuencia, la longitud, e incluso el número y las posiciones de los dinucleótidos CpG no metilados [3], [7].

3.1. Protección frente a la degradación

En general, los CpG ODNs son rápidamente degradados por las ADNasas, por lo que actualmente la investigación se centra en el diseño de óligos resistentes a estas enzimas. En la mayoría de los casos, la resistencia se obtiene al reemplazar el oxígeno libre (blanco de las ADNasas) del grupo fosfato por un átomo de azufre, constituyendo así un enlace fosforotioato [3]. De esta forma, existen varios tipos de óligos empleados, que difieren en sus características estructurales (Fig.3), y pueden clasificarse principalmente en cuatro categorías: clase A, clase B, clase C y clase P. Las secuencias palindrómicas presentes en los óligos son esenciales, en ciertos casos, para la formación de dúplex que potencien la unión a los TLR9 y su activación.

Esta diferencia en la composición también hace que las diferentes clases de CpG ODNs estimulen determinadas células del sistema inmune, y provoquen así diferentes efectos sobre los dos tipos de respuesta inmunitaria [3].



Fig. 3. Características diferenciales de las secuencias de los CpG ODNs de cada clase. Las regiones subrayadas indican secuencias palindrómicas, los guiones negros y rojos indican enlaces fosfodiéster y fosforotioato respectivamente, y los dímeros CpG aparecen en azul [3].

3.2. Uso de nanopartículas como “carriers”

Durante los últimos años, se ha estudiado el uso de sistemas de administración de los oligos CpG no metilados, con el fin de mejorar su eficiencia como adyuvantes en las vacunas [8]. Uno de los *carriers* más desarrollados son las nanopartículas (Fig.4), generalmente metálicas, que se ha comprobado que presentan varias ventajas [3]:

- Protección frente a la degradación por ADNasas.
- Aumento del tiempo de retención en el interior del cuerpo.
- Disminución de la dosis administrada, debido a la mejora en la eficiencia de su “captura” por las células correspondientes.
- Capacidad de alcanzar los tejidos diana.
- Capacidad de cambiar de localización dentro del cuerpo.

Aparte de las nanopartículas, también se investiga el uso de micropartículas biodegradables, liposomas, chips de administración de fármacos con liberación pulsátil, e incluso híbridos célula-micropartícula [8]. El efecto de todos estos transportadores es mayor si se encuentran conjugados con los CpG ODNs y con el antígeno recombinante (vacuna) de forma simultánea.

4. OTRAS APLICACIONES

La estimulación de las células del sistema inmune innato y adaptativo trae consigo una serie de aplicaciones potenciales de los oligos CpG.

Una de ellas es su posible uso en el tratamiento del cáncer. La activación de células NK (*natural killer*) y linfocitos T citotóxicos hace que el uso de este elicitador adquiera importancia en combinación con otras terapias anticancerígenas [9]. Se ha comprobado que su uso junto con anticuerpos monoclonales antitumorales (terapia inmune pasiva) aumenta significativamente la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) [10].

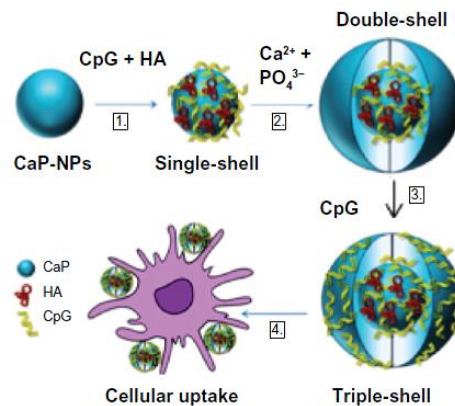


Fig. 4. Diseño de un sistema de transporte de CpG ODNs a base de nanopartículas con una doble capa de fosfato de calcio. En este caso, se incluye también el antígeno del virus de la gripe (hemaglutinina) [3]. CaP, fosfato de calcio; HA, hemaglutinina; NP, nanopartículas.

Otra aplicación de los oligos CpG se halla en el tratamiento del asma y otras enfermedades alérgicas. La respuesta alérgica suele iniciarse por la acción de linfocitos Th2 (*T ayudantes tipo 2*) contra antígenos inocuos presentes en el ambiente. Sin embargo, la administración de CpG ODNs, combinada con la presencia del alérgeno, provoca una fuerte respuesta específica de antígeno de los linfocitos Th1 (*T ayudantes tipo 1*), que parece inhibir el desarrollo de la respuesta alérgica mediada por los Th2 [9]. De hecho, recientemente se ha descubierto que de esta forma no sólo se previene el desarrollo de enfermedades alérgicas, sino que también se consigue reducir los efectos adversos de la exposición al alérgeno, incluso en ratones previamente sensibilizados [10].

Por último, cabe destacar que, en ciertos casos, los CpG ODNs pueden ser empleados directamente como vacuna para potenciar la respuesta inmune innata y adaptativa contra infecciones bacterianas o virales. En varios estudios llevados a cabo en ratones, se ha determinado que una sola dosis protege durante al menos 2-4 semanas contra infecciones letales de un amplio rango de patógenos, tales como *Francisella tularensis*, *Listeria monocytogenes*, el virus del Ébola, la malaria o la leishmaniasis [10].

5. CONCLUSIONES

Como se ha comentado, muchas son las ventajas del uso de estos potenciadores, aún en desarrollo, de la respuesta inmune. Sin embargo, en la actualidad están en marcha una serie de ensayos clínicos para evaluar la seguridad y la actividad de los CpG ODNs en humanos. Algunos resultados obtenidos invitan al optimismo, y en ciertos casos la inmunogenicidad de las vacunas se ve aumentada con el uso de estos adyuvantes [11].

Los esfuerzos en este ámbito deben continuar, con el fin de identificar el tipo de oligo óptimo en humanos, controlar la seguridad a largo plazo, y establecer la dosis óptima, la duración de la terapia y la ruta de administración del complejo vacuna-ODN. En los próximos años, el potencial terapéutico de este estimulador inmunológico debería quedar especificado, junto con el mejor entendimiento de su mecanismo molecular de acción.

REFERENCIAS

- [1] M. Gardiner-Garden and M. Frommer, "CpG islands in vertebrate genomes", *Journal of Molecular Biology*, vol. 196, no. 2, pp. 261-282, Jul 1987, doi:10.1016/0022-2836(87)90689-9.
- [2] M. Fatemi, M.M. Pao, S. Jeong, E.N. Gal-Yam, G. Egger, D.J. Weisenberger and P.A. Jones, "Footprinting of mammalian promoters: use of a CpG DNA methyltransferase revealing nucleosome positions at a single molecule level", *Nucleic Acids Research*, vol. 33, no. 20, pp. 1-9, Oct 2005, doi:10.1093/nar/gni180.
- [3] N. Hanagata, "Structure-dependent immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides and their delivery system", *International Journal of Nanomedicine*, no. 7, pp. 2181-2195, Apr 2012, doi:10.2147/IJN.S30197.
- [4] A.L. DeFranco, R.M. Locksley and M. Robertson, *Immunity: The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease*. Corby, Northants, pp. 74-75, 2007.
- [5] F.H. Robledo Ávila and M.A. Velasco Velázquez, "Aplicaciones terapéuticas de los agonistas de TLRs", *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, vol. 52, no. 4, pp. 173-176, Jul/Aug 2009.
- [6] H. Chi and R.A. Flavell, "Innate recognition of non-self nucleic acids", *Genome Biology*, vol. 9, no. 3, article 211, pp.1-7, Mar 2008, doi:10.1186/gb-2008-9-3-211.
- [7] R.K. Scheule, "The role of CpG motifs in immunostimulation and gene therapy", *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 44, no. 2-3, pp.119-134, Nov 2000, doi:10.1016/S0169-409X(00)00090-9.
- [8] Y. Krishnamachari and A.K. Salem, "Innovative strategies for co-delivering antigens and CpG oligonucleotides", *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 61, no. 3, pp. 205-217, Mar 2009, doi:10.1016/j.addr.2008.12.013.
- [9] D.M. Klinman, "Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides", *Nature Reviews Immunology*, vol. 4, no. 4, pp. 249-259, Apr 2004, doi:10.1038/nri1329.
- [10] A.M. Krieg, "From Bugs to Drugs: Therapeutic Immunomodulation with Oligodeoxynucleotides Containing CpG Sequences from Bacterial DNA", *Antisense & nucleic acid drug development*, vol. 11, no. 3, pp. 181-188, Jun 2001.
- [11] C.L. Cooper, H.L. Davis, M.L. Morris, S.M. Efler, A.M. Krieg, Y. Li, C. Laframboise, M.J. Al Adhami, Y. Khalig, I. Seguin, D.W. Cameron, "Safety and immunogenicity of CPG 7909 injection as an adjuvant to Fluarix influenza vaccine", *Vaccine*, vol. 22, no. 23-24, pp. 3136-3143, Aug 2004.



Daniel Enterría Morales, estudiante de 4º curso del Grado en Biotecnología, Universidad Pablo de Olavide.

¡Seguro que es lupus!

Sara Martín Villanueva

Resumen—El doctor Gregory House, cuando recibe un paciente con alguna enfermedad extraña de la que no encuentra explicación, siempre recurre al lupus como diagnóstico aunque finalmente nunca suele ser lupus. El uso del lupus como "enfermedad comodín" se debe a su difícil diagnóstico ya que presenta muchos síntomas que pueden pertenecer a casi cualquier enfermedad; además, el lupus afecta a cada persona de una manera distinta. Pero, ¿qué es exactamente esta enfermedad?, ¿a qué se debe y cómo podría tratarse?

Palabras Claves— Autoanticuerpos, enfermedades autoinmunes, lupus eritematoso, tratamiento.

1. INTRODUCCIÓN

El sistema inmunitario está diseñado para atacar a sustancias extrañas a nuestro propio organismo. Sin embargo, en el lupus, el sistema inmune acata a células y tejidos sanos de nuestro cuerpo. Así, el lupus pertenece a un grupo de enfermedades denominadas enfermedades autoinmunes. En este tipo de enfermedades, el sistema inmunitario reacciona contra el propio organismo produ-

ciendo autoanticuerpos que reconocerán antígenos propios. Se deben principalmente a errores en el proceso de tolerancia inmunológica, donde los linfocitos que reconocen antígenos propios deberían ser seleccionados negativamente.

Hay una gran variedad de enfermedades autoinmunes. Muchas de estas enfermedades afectan a un órgano específico aunque otras pueden afectar al organismo completo, como es el caso del lupus. Este afecta a la po-

blación general y, concretamente, en Estados Unidos, afecta a 1 de cada 4000 personas [1].

Se distinguen varios tipos de lupus, aunque el más importante es el lupus eritematoso sistémico (LES) ya que es el más común y puede provocar graves problemas. Se producen inflamaciones y daños en distintos tejidos debido a la acumulación en la sangre de agregados antígeno-anticuerpos que no pueden ser eliminados [2], [3].

Sin embargo, la causa de esta enfermedad es aún desconocida aunque hay ciertos factores que están involucrados en el desarrollo del lupus. Se produce inflamación y daño en distintos tejidos y órganos como los riñones, la piel, articulaciones, pulmones, vasos sanguíneos, el cerebro... (Figura 1) [2].

2. CAUSAS

2.1. Etiología

Las causas del lupus eritematoso sistémico son desconocidas. Sin embargo, hay ciertos factores que pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad y que pueden afectar al desarrollo de los linfocitos T, B o a ambos. Distintos estudios muestran que hay una cierta predisposición genética a adquirir la enfermedad, aunque hay muy pocos casos en los que se deba a un único gen, generalmente deben afectarse varios genes [3].

El inicio del lupus se ve favorecido por determinados factores ambientales, que pueden provocar cambios epigenéticos. Parece ser que factores como fumar o una elevada exposición a la luz solar están relacionados con el desarrollo del lupus, ya que además muchos enfermos con LES presentan fotosensibilidad.

Es importante destacar que ciertos virus como por ejemplo el virus de Epstein-Barr también pueden contribuir al inicio del lupus, debido a la presencia en estos virus de antígenos similares a moléculas de nuestro propio organismo, favoreciendo una respuesta autoinmune [4].

Por último, también se ha demostrado que ciertos medicamentos y hormonas pueden favorecer el desarrollo de la enfermedad. De hecho, el 90% de los casos de lupus corresponden a mujeres, lo que se relaciona tanto con la presencia de hormonas femeninas como con el cromosoma X *per se* [3].

2.2. Fisiopatología

Como se ha comentado, en el lupus se producen autoanticuerpos que atacarán al propio organismo. El origen de estos autoanticuerpos parece ser debido a células apoptóticas que, en condiciones normales serán degradadas por macrófagos. Sin embargo, en el lupus incrementa la apoptosis y disminuye el aclaramiento de estas células apoptóticas con lo que se acumulan restos apoptóticos y fragmentos nucleares que desencadenarán inflamación y promoverán la síntesis de anticuerpos por linfocitos B autorreactivos ya que estos antígenos nucleares serán reconocidos como señales de peligro [5], [6].

Los autoanticuerpos secretados se unirán a los antígenos nucleares formando inmunocomplejos que se acumularán en los tejidos. Estos inmunocomplejos serán captados por células dendríticas que producirán IFN- α y otras

citoquinas proinflamatorias [5].

Se ha visto que este IFN- α favorece la inmunidad ya que activa a linfocitos T, promueve la maduración de células dendríticas e interviene en la diferenciación de linfocitos B a células plasmáticas. Estas células plasmáticas producirán autoanticuerpos, lo que favorece aún más la formación de inmunocomplejos derivando en una mayor producción de IFN- α [5], [6].

3. DIAGNÓSTICO

El lupus suele ser muy difícil de diagnosticar ya que puede confundirse con otras enfermedades y cada paciente presenta síntomas diversos. Se ven afectados varios tejidos y órganos como pulmones, riñones, corazón o cerebro.

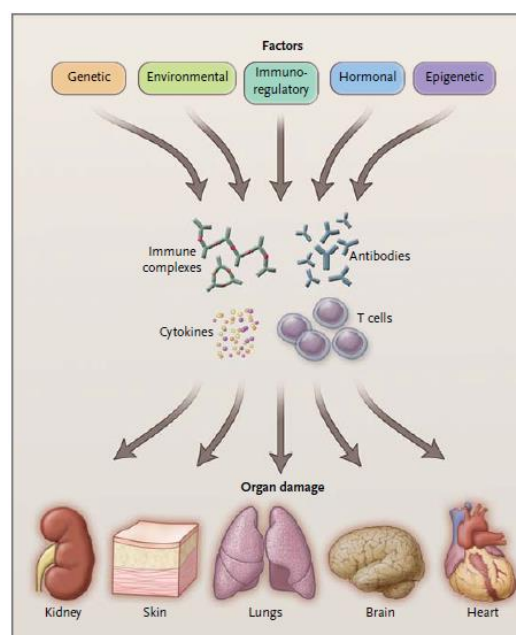


Fig. 1. Visión general de la patogénesis del lupus eritematoso sistémico

Algunos de estos síntomas son:

- Dolor o inflamación de las articulaciones
- Dolor en músculos
- Sarpullido enrojecido
- Pérdida de cabello
- Fiebre
- Sensibilidad al sol
- Dolor de pecho
- Cansancio
- Hinchazón en las piernas, alrededor de los ojos o de glándulas
- Úlceras en la boca

Sin embargo, se han definido 11 criterios, de los cuales es necesario que se presenten al menos 4 para diagnosticar LES. Estos criterios pueden verse en la Tabla 1 [7].

4. TRATAMIENTO

Actualmente no existe una cura para el LES por lo que el tratamiento estará dirigido a paliar los síntomas de esta enfermedad. Por ello, el tratamiento del lupus dependerá de los síntomas que presente cada enfermo, debe adaptarse a este. La finalidad del tratamiento es prevenir los brotes, tratarlos, minimizar las complicaciones y reducir el daño a los órganos. De esta manera, la mayor parte de los medicamentos están dirigidos a ayudar al sistema inmune, a reducir la inflamación y el dolor, a equilibrar los niveles hormonales... [2]

Hasta hace poco tiempo, el único tratamiento para esta enfermedad estaba constituido por glucocorticoides, aspirina y la hidroxiquina. Estos fármacos, por lo general, han resultado bastante eficaces mejorando el pronóstico a largo plazo. Sin embargo, algunos pacientes presentan efectos adversos por lo que se está llevando a cabo una intensa investigación para buscar nuevos tratamientos específicos para esta enfermedad gracias a que cada vez se conoce más sobre el mecanismo patogénico del lupus. Debido a que los fármacos actuales resultan en algunos casos ineficaces, también se está investigando el trasplante de células madre hematopoyéticas como tratamiento para enfermedades autoinmunes severas, especialmente para el LES [2], [8].

Los nuevos fármacos en investigación están dirigidos a dianas celulares específicas, así como a diana extra e intracelulares. Para atacar a estas dianas se están desarrollando anticuerpos monoclonales y proteínas de fusión recombinantes. De hecho, hace poco se aprobó el primer fármaco para el tratamiento del LES desde 1957, el belimumab, un anticuerpo monoclonal. Hay también varios fármacos que se encuentran en fase de desarrollo [2].

Algunos de estos fármacos en desarrollo están basados en conseguir que los restos nucleicos que en el lupus son reconocidos como peligrosos, pierdan su capacidad inmunogénica para que no se produzcan autoanticuerpos. Este grupo de medicamentos se conoce con el nombre de tolerágenos, ya que pretente tolerizar los restos nucleicos. Sin embargo, aunque estos fármacos han conseguido disminuir la producción de autoanticuerpos, no mejoran los síntomas de la enfermedad [6].

Otro grupo de fármacos están basados en la inhibición del sistema del complemento. Este sistema, en el lupus, tiene dos papeles importantes: en las primeras etapas participa en el aclaramiento de las células apoptóticas y, en las últimas etapas interviene en el proceso inflamatorio. Por lo tanto, interesa inhibir al complemento únicamente en las últimas etapas ya que si se hiciese en las etapas tempranas, se acumularían aún más restos celulares que serán reconocidos como peligrosos [2], [6].

Se ha visto que las células dendríticas que participan en la respuesta inmune cumplen un papel importante en el lupus ya que liberan grandes cantidades de IFN- α . Por lo tanto, se están desarrollando fármacos basados en la inhibición de estas células, concretamente en la inhibición de los receptores toll-like presentes en estas células mediante los cuales reconocerán los restos celulares. Además, actualmente hay dos anticuerpos monoclonales capaces de bloquear el IFN- α que se están empezando a

TABLA 1
CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DEL LES SEGÚN EL COLEGIO AMERICANO DE REUMATOLOGÍA

Criterio	Definición
Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, respetando los pliegues nasolabiales
Erupción discoide	Zonas eritematosas elevadas con escamas queratóticas adherentes y taponamiento folicular. En las lesiones antiguas puede producirse cicatrización atrófica.
Fotosensibilidad	Erupción cutánea a causa de una reacción insólita a la luz solar, referida por el paciente u observada por el médico
Úlceras orales	Ulceración nasofaríngea, por lo común indolora, observada por un médico
Artritis	Artritis no erosiva que afecta dos o más articulaciones periféricas, caracterizada por dolor a la palpación, tumefacción o derrame Pleuritis (claro antecedente de dolor pleurítico o frote, o signos de derrame pleural) o pericarditis (comprobada por electrocardiograma o frote o signos de derrame pericárdico)
Serositis	Cantidad excesiva de proteínas o gránulos celulares en la orina
Nefropatía	Ataques epilépticos y/o psicosis
Alteración neurológica	Anemia hemolítica, bajo recuento de glóbulos blancos o plaquetas.
Alteración hematológica	Anticuerpos para ADN bicatenario, anticuerpos anti Sm (Smith) o anticuerpos cadiolipina
Alteración inmunológica	Prueba positiva en ausencia de medicamentos que se sabe inducen la enfermedad
Anticuerpos antinucleares positivos	

testar en humanos [5], [6].

El IFN- γ también ha sido investigado para ver el papel que desempeña en el lupus, ya que induce la expresión del estimulador soluble del linfocito B y es un potente mediador de la inflamación, por lo que se están desarrollando anticuerpos monoclonales dirigidos hacia esta molécula [5].

Por último, otro grupo de fármacos en desarrollo se basan en la depleción de los linfocitos B, no solo para disminuir la producción de autoanticuerpos sino también para lograr otros efectos que pueden ayudar a suprimir la autoinmunidad [2], [6].

5. CONCLUSIONES

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad compleja, que afecta a diversos órganos y de la que aún quedan muchos aspectos por dilucidar, aunque se hayan realizado numerosas investigaciones para lograr conocer su mecanismo patogénico y sus causas. Actualmente, los fármacos utilizados para tratar la enfermedad no son específicos para el lupus, ya que están dirigidos únicamente a paliar sus síntomas. Sin embargo, con el desarrollo de la biotecnología, actualmente hay numerosos fármacos en fase de desarrollo dirigidos hacia dianas específicas de la enfermedad que podrían suponer la cura definitiva al lupus.

REFERENCIAS

- [1] E.M. Tan, "Antoantibodies, autoimmune disease, and the birth of immune diagnostics" *J. Clin. Invest.*, vol. 122, no. 11, pp. 3835-3836, Nov 2012, doi: 10.1172/JCI66510
- [2] S. Bezalel, I. Asher, D. Elbirt and Z.M. Sthoeger, "Novel biological treatments for systemic lupus erythematosus: current and future modalities." *Isr Med Assoc J.*, vol. 14, no. 8, pp. 508-514, Aug 2012
- [3] G.C. Tsokos, "Systemic Lupus Erythematosus" *N Engl J Med*, vol. 365, pp. 2110-2121, Dec 2011, doi: 10.1056/NEJMra1100359
- [4] A.H. Draborg, K. Duus and G. Houen, "Epstein-Barr Virus and Systemic Lupus Erythematosus", *Clin Dev Immunol*, July 2012, doi: 10.1155/2012/370516.
- [5] A. N. Theofilopoulos, "TLRs and IFNs: critical pieces of the autoimmunity puzzle" *J Clin Invest*, vol. 122, no. 10, pp. 3464-3466, Oct. 2012, doi: 10.1172/JCI63835.
- [6] W.A. Sifuentes, M.J. García, A.L. Boteanu, A. Lois and A.C. Zea "New Therapeutic Targets in Systemic Lupus" *Reumatol Clin*, vol. 8, no. 4, pp. 201-207, Jul/Aug 2012, doi: 10.1016/j.reuma.2012.06.011.
- [7] S. Habibi, M.A. Saleem and A.V. Ramanan, "Juvenile Systemic Lupus Erythematosus: Review of Clinical Features and Management", *Indian Pediatr.*, vol. 48, no. 11, pp. 879-887, Nov. 2011.
- [8] A.M. Marmont du Haut Champ, "Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Systemic Lupus Erythematosus", *Clin Dev Immunol*, Aug. 2012, doi: 10.1155/2012/380391.



Sara Martín Villanueva actualmente estudia el 4º curso del Grado en Biotecnología por la Universidad Pablo de Olavide.

Neuroinflamación, ¿beneficio o perjuicio?

Javier Villegas Sánchez

Resumen— La presencia de células gliales, fundamentalmente microglía, en las placas seniles características de la enfermedad de Alzheimer que se forman y depositan en determinadas regiones cerebrales durante la progresión de dicha enfermedad sugiere que estos tipos celulares deben ejercer algún tipo de función sobre el proceso inflamatorio que desencadena la acumulación de péptidos amiloides, y por tanto, sobre la neurodegeneración observada en esta enfermedad. Sin embargo, queda aún por esclarecer si el papel que cumple la microglía en todo este proceso va dirigido a mantener la supervivencia de las neuronas o si por el contrario favorece la neurotoxicidad en estas, y en última instancia, la muerte neuronal.

Palabras Claves— Activación, Alzheimer, Amiloide, Microglía, Neuroinflamación.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer, descrita originalmente en 1907 por el doctor Alois Alzheimer, es actualmente la causa más común de demencia en personas mayores, afectando a unas 27 millones de personas en todo el mundo y cuya incidencia se estima que se incrementará en los próximos años como consecuencia del aumento de la esperanza de vida de la población.

Se trata de una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por un deterioro progresivo de las áreas cerebrales encargadas del control de la memoria y otras funciones cognitivas como la comunicación o el aprendizaje, dificultando en gran medida el desempeño de las tareas cotidianas en aquellas personas que la sufren [1], [2].

Hoy en día, la hipótesis más aceptada para explicar la causa principal de este proceso neurodegenerativo es la del β -amiloide ($A\beta$), según la cual tiene lugar la acumulación excesiva de péptidos $A\beta$ originados por el procesa-

miento descontrolado de una proteína precursora amiloide (APP), que cumple funciones importantes en la diferenciación celular y establecimiento de sinapsis y cuyo gen se localiza en el cromosoma 21. Este procesamiento se lleva a cabo por lo que se conoce como vía amiloidogénica, a través de la acción secuencial de las enzimas, la β -secretasa y la γ -secretasa, que realizan cortes proteolíticos sobre la APP generando péptidos de unos 40-43 aminoácidos (los péptidos $A\beta$) que se agregan en conformaciones de β -lámina insolubles, depositándose tanto en el exterior como en el interior de neuronas de determinadas regiones cerebrales, fundamentalmente el hipocampo. De esta forma, la acumulación progresiva de estas placas peptídicas desencadena una serie de estreses y desórdenes celulares, que afectan de forma principal al metabolismo energético de la neurona y que finaliza con la atrofia y muerte de esta. Además, la deposición intraneuronal de las placas neuríticas desencadena la hiperfosforilación anormal de la proteína tau (τ), que da lugar a su agregación y acumulación en forma de ovillos neurofibrilares [1], [2], [6]. Esta proteína se encuentra en condiciones

normales formando parte de la estructura de los microtúbulos que llevan a cabo labores de soporte estructural y transporte en el interior de las neuronas, con lo que su disfunción acelera los mecanismos neurodegenerativos actuando de forma sinérgica con los oligómeros A β y finalizando con la muerte neuronal. A pesar de que estas placas A β son los principales componentes de estos depósitos amiloides, también están presentes otras componentes celulares como proteínas del complemento, ferritina y apolipoproteínas entre otras moléculas.

Sin embargo, se ha observado que las placas neuríticas se hallan también asociadas a células microglía en estado de activación, que se encuentran localizadas cerca del núcleo o "estrella" del amiloide, y a su vez están rodeadas de astrositos formando un anillo glial. Esclarecer el papel que desempeñan estas células en la progresión de la neurodegeneración en el Alzheimer se hace fundamental para comprender de forma más exacta cómo interviene la inflamación del tejido neuronal en la enfermedad y en la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

2. NEUROINFLAMACIÓN: LA MICROGLÍA.

2.1. ¿Qué es la microglía?

Las células microglía son los macrófagos residentes en el cerebro que derivan de los precursores monolíticos durante el período de embriogénesis, y que por tanto, constituyen la primera línea de defensa contra patógenos u otro tipo de daño que se produzca en el sistema nervioso central, representando el 10% de las células del sistema nervioso. De esta forma, la microglía endógena del cerebro, junto con los macrófagos exógenos hematógenos, que derivan de precursores de la médula ósea y son reclutados al parénquima cerebral tras atravesar la barrera hematoencefálica atraídos por quimioquinas constituye el sistema inmunológico innato del cerebro [4].

2.2. Microglía e inflamación

La activación de la microglía como consecuencia de algún daño sufrido en el tejido nervioso da lugar a la síntesis por parte de estas células de una amplia variedad de compuestos pro y antiinflamatorios (en su mayoría citoquinas, prostaglandinas y factores de crecimiento) destinados a eliminar la infección y restaurar la integridad neuronal, pero que en niveles inadecuados puede incrementar el daño tisular. De esta forma, la microglía participa en una forma de neuroinflamación conocida como "gliosis reactiva" característica de un gran número de enfermedades neurodegenerativas, entre las que se encuentra el Alzheimer [1].

La inflamación del tejido cerebral, a diferencia de otros tejidos, no causa dolor o sudoración, y como se ha comentado, se caracteriza por la presencia de un gran número de monocitos y microglía en estado de activación secretando una gran cantidad de sustancias que intervienen en el proceso de inflamación [4].

2.3. Asociación entre microglía y A β

Desde que en 1920, del Rio Hortega y Penfield identificaran y caracterizaran por primera vez las células microglía (aunque previamente habían sido descritas por Nissl

en 1899), se ha sabido de su presencia en las placas amiloides características del Alzheimer. En un principio, se pensó que estas placas neuríticas eran producidas por las propias microglías, y esta idea perduró hasta que finalmente descubrió el verdadero origen de los péptidos A β . Más tarde, Griffith puso de manifiesto la función inmunológica que cumplen estas células al demostrar que expresaban la sustancia inmunomoduladora interleuquina-1, que además regulaba la síntesis de la proteína APP, hecho que sugería que estas células debían cumplir algún papel en el desarrollo de las placas amiloides en personas con Alzheimer. Desde entonces, son muchas las moléculas que se han descubierto estar sobreexpresadas en el cerebro durante esta enfermedad, siendo las más importantes las interleuquinas 2, 6 y 10, el factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1) y el interferón α [3].

En los últimos 20 años, se han estado llevando a cabo investigaciones neuropatológicas que intenten arrojar luz acerca del papel que desempeñan los mecanismos inflamatorios sobre el desarrollo de las placas amiloides, y por tanto, de la enfermedad de Alzheimer. En este tiempo son varios aspectos los que se han descubierto con relativa claridad y pueden contribuir a una mejor comprensión de la progresión de la neurodegeneración.

En primer lugar, se ha observado que la distribución de la microglía en activación varía en función del estado de progresión de las propias placas A β en el tejido cerebral, siendo las regiones más afectadas el hipocampo y el lóbulo temporal; de hecho, se ha comprobado que en individuos sanos la microglía se localiza de forma similar que en individuos con Alzheimer (aunque se hallan en estado de reposo), lo que puede indicar que el patrón de distribución que siguen dichas células es el que posteriormente se observará en las placas neuríticas.

De esta forma, tanto el número como el grado de activación de la microglía dependen del estado de progresión en el que se hallen dichas placas, que presentan diferentes morfologías según el avance de la enfermedad. En las primeras etapas, donde los péptidos A β no han formado todavía una verdadera placa amiloide, sino que se trata de depósitos de morfología difusa, la microglía presenta una conformación casi idéntica a la de su forma inactivada o de reposo, sin capacidad fagocítica, únicamente identificable mediante técnicas inmunohistoquímicas que permitan detectar la presencia de las citoquinas que se hallan sobreexpresadas. A continuación, estos depósitos difusos progresan hacia las formas neuríticas, con morfología fibrilar, y que se encuentra asociada a una mayor número de microglías con un grado de activación superior y con menor número de prolongaciones. Sin embargo, en los siguientes estadios de la enfermedad, donde se produce una condensación de los amiloides, tiene lugar una reducción en el número y activación de células asociadas a estas partículas fibrilares; es como si el estímulo inmunogénico que atraía a la microglía hacia las placas amiloides hubiese desaparecido. Esta serie de eventos se ha asociado con la capacidad de estas células de dañar las neuronas que lo rodean debido a las propiedades neurotóxicas de la interleuquina-1 en altos niveles (que se halla sobreexpresada durante la activación de la microglía), de

forma que a medida que se va produciendo la distrofia y muerte neuronal hasta los estadios finales, el número de microglía se reduce en sus alrededores, lo que sugiere que de alguna forma las neuronas que se ven afectadas por las placas seniles interactúan mediante compuestos solubles (como neurotransmisores) o mediante contacto directo con estas células inmunitarias, atrayéndolas y favoreciendo su activación (de hecho se ha comprobado que gran parte de las microglías acumulan en su interior ADN fragmentado, probablemente procedente de neuronas dañadas o muertas, lo que apoya a esta hipótesis de interacción neurona-microglía) [2],[3].

Otro de los aspectos más significativos que puede recogerse de los últimos estudios realizados, y que va en consonancia con lo anteriormente descrito, hace referencia a que se pueden distinguir varios “fenotipos” de microglía en función del estado de activación en el que se encuentre, existiendo así una heterogeneidad funcional en dichas células, que marca el desarrollo de la enfermedad. De hecho, se han identificado hasta tres fenotipos o formas de activación diferentes de microglía: clásica o proinflamatoria, alternativa o antiinflamatoria y desactivación adquirida, de forma que coexisten varias poblaciones de microglías, cada una de ellas con un estado de activación diferente [4]. En muchos de estos estudios se ha sugerido la posibilidad de que la activación de estas células se lleve a cabo por la interacción directa de las placas amiloides con receptores de membrana de la propia microglía, como receptores SRA, del complemento, TLRs o complejos proteicos de integrinas [2]

Además, esta hipótesis plantea que el contexto ambiental en el que tiene lugar la activación de estas células determinará que ejerzan una función neuroprotectora, destinada a mantener la supervivencia neuronal, o todo lo contrario, durante la enfermedad de Alzheimer. De esta forma, se han presentado pruebas que muestran que estas células pueden comportarse tanto de forma “buena” como “mala”. Los estudios que aseguran que la microglía cumple un papel más perjudicial para las neuronas que beneficioso se soportan fundamentalmente en el hecho de que estas células expresan en grandes cantidades citoquinas como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e interleuquina-1 β (IL-1 β), que causan daño neuronal a dichos niveles. Para confirmar este evento, se han llevado a cabo experimentos en los que se ha demostrado que el uso de drogas antiinflamatorias no esteroideas (NSAIDs) reduce la activación de la microglía, reduciendo los mecanismos inflamatorios y por tanto el daño neuronal; de hecho, se ha observado que personas que padecen artritis y son medicadas con NSAIDs presentan tres veces menos células microglías en estado de activación que personas no medicadas con estos compuestos [4],[5].

Por otro lado, los argumentos a favor del efecto beneficioso de la neuroinflamación sobre la formación de placas amiloides sostienen que este proceso es esencial para la supervivencia de las neuronas, aunque en muchos casos la línea que separa la neuroprotección de la neurotoxicidad es muy fina. Estas afirmaciones se derivan principalmente de experimentos llevados a cabo con ratones transgénicos que sobreproducen los β -amiloides y en los

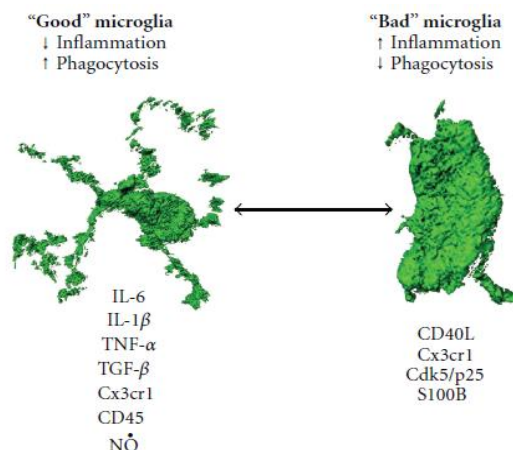


Fig. 1 Modelo tridimensional que muestra las representaciones de la microglías “buena” y “mala”, así como el patrón de moléculas producidas durante su estado de activación.

que se inyectan citoquinas proinflamatorias, como IFN- γ , o anticuerpos anti A β , observándose un incremento en la eliminación de estas placas amiloides; a partir de estos resultados se ha planteado que de forma natural, los anticuerpos anti A β originados cruzan la barrera hematoencefálica, y mediante su unión a los receptores Fc situados en las membranas de la microglía, permiten la fagocitosis de dichas placas neuríticas, favoreciendo su eliminación. Aún así, la tasa de acumulación de los péptidos amiloides superaría a la de eliminación por la microglía, por lo que no se frenaría la progresión de la enfermedad, aunque también se ha sugerido que lo que ocurre realmente es que estas células acaban degenerando y perdiendo su capacidad fagocítica [2], [4], [5].

5. CONCLUSIONES

A pesar de las intensas investigaciones que se están llevando a cabo y los resultados que ya se han obtenido y comentado en el presente artículo sobre el papel que cumplen las células inmunitarias de la microglía en personas que padecen Alzheimer, todavía queda un largo camino que recorrer. Muchos de los estudios llevados a cabo ofrecen en numerosas ocasiones resultados contradictorios, y si bien todas las hipótesis planteadas contienen algo de cierto, ninguna de ellas es completamente exacta, por lo que no pueden extraerse conclusiones determinantes.

Aún así, muchos de los resultados obtenidos son esperanzadores, y ya se está trabajando en la búsqueda de estrategias terapéuticas que tengan como diana estas células. Algunas de las más novedosas incluyen desde vacunas utilizadas para promover el proceso fagocítico de las placas amiloides mediante el mecanismo ya descrito anteriormente o inmunización pasiva con los anticuerpos anti A β junto con fármacos antiinflamatorios destinados a reducir la activación de la microglía.

Además, se están evaluando fármacos que actúen a nivel de interacción entre microglía y células T, como un copolímero de alanina, tirosina, glutamato y lisina que

induce la respuesta celular dependiente de Th2 y Th3, favoreciendo la activación de la microglía sin causar neurotoxicidad, que favorezca la eliminación de las placas seniles. También se están analizando otras estrategias destinadas a la activación de receptores de membrana de la microglía, como los TLRs o los SRs, así como a potenciar la expresión de enzimas que degradan los β -amiloides, como metaloproteasas o la gelatinasa A, todos ellos con el objetivo de acelerar la retirada de los depósitos amiloides [2].

Por último, se está investigando los efectos beneficiosos de determinados compuestos naturales, como los flavonoides derivados de la planta de té verde, que además de actuar como antioxidantes, reducen la producción de citoquinas proinflamatorias y potencian la respuesta dependiente de células T [1].

Por todo ello, es necesario continuar en esta línea, obteniendo la máxima información posible sobre todos los elementos implicados en el desarrollo de una enfermedad con tal impacto social y económico como lo es el Alzheimer, lo que permitirá en un futuro la elaboración de fármacos eficaces que consigan prevenir, reducir en gran medida o incluso detener su progresión, aunque por el

momento, nos encontramos muy lejos de dicho propósito.

REFERENCIAS

- [1] Jose Miguel Rubio-Pérez y Juana María Morillas-Ruiz, A Review: Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines.
- [2] D. Farfara, V. Lifshitz, D. Frenkel, Neuroprotective and neurotoxic properties of glial cells in the pathogenesis of Alzheimer's disease.
- [3] Robert E. Mrazek, Microglia in Alzheimer Brain: A Neuropathological Perspective.
- [4] Tara M. Weitz and Terrence Town, Microglia in Alzheimer Disease: It's All About Context.
- [5] Suzanne E. Hickman, Elizabeth K. Allison, and Joseph El Khoury, Microglial Dysfunction and Defective β -Amyloid Clearance Pathways in Aging Alzheimer's Disease Mice
- [6] Villegas Sánchez Javier, Alzheimer: Un mal con presente y futuro, MoleQla N°4, Págs 120-124.



Javier Villegas Sánchez Grado en Biotecnología. Curso 4º. Universidad Pablo de Olavide

Esclerosis múltiple: cuando tu sistema inmune se vuelve contra ti

Gonzalo Ortiz Álvarez

Resumen— Dentro del marco de las enfermedades autoinmunes, una de las que más estragos causan, sobre todo en la población joven, es la esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria que causa la desmielinización de las neuronas debido a un ataque orquestado de células del sistema inmune (células B, T y macrófagos) y la actividad de citoquinas proinflamatorias. Las causas subyacentes son de origen genético y ambiental, pero no del todo conocidas, lo que ha causado que en los últimos años no haya habido una gama muy amplia de fármacos que actúen contra esta enfermedad.

Palabras Claves— Autoinmunidad, Esclerosis múltiple, Inmunodepresión, Inmunomodulación, Vaina de mielina.

1. INTRODUCCIÓN

La **esclerosis múltiple** (EM) es la enfermedad crónica inflamatoria del sistema nervioso central más común [1] entre jóvenes y adultos, pues suele manifestarse a tempranas edades, entre los 20 y 40 años, aunque su patología pueda desarrollarse igualmente en niños y ancianos [2]. La sufren aproximadamente 1 de cada 1000 personas en Europa, América del Norte y Australia es donde esta afección es más común, mientras que en América del Sur y Central, Asia (a excepción de Siberia) y África, la fre-

cuencia es bastante menor [3].

Se trata de una enfermedad de tipo autoinmune [4], es decir, que se caracteriza porque el sistema inmune reacciona contra moléculas del propio organismo que debería reconocer como propias y frente a las cuales, por consiguiente, debería reaccionar con tolerancia.

A nivel celular, este mal se caracteriza por un ataque del sistema inmunológico contra las vainas de mielina que recubren los axones de las neuronas. Esto origina una pérdida de esta estructura, proceso denominado desmielinización [4], que conduce a unos síntomas que pueden ser diagnosticados y relacionados con la EM, como las

perturbaciones sensoriales, la neuritis óptica, debilidad de las extremidades, ataxia, descontrol de la vejiga, fatiga y déficits cognitivos [1].

2. ETIOLOGÍA

Las causas de la EM vienen probablemente determinadas, como es el caso de muchas enfermedades como el cáncer, por un componente genético que hace especialmente susceptibles a ciertos individuos de padecer dicho trastorno y, por otra parte, de una serie de desencadenantes ambientales [5].

2.1. Factores genéticos

La presencia de ciertos alelos en un individuo puede en cualquier caso aumentar las probabilidades de que este padezca la enfermedad, pero no es determinante. Aunque no hay genes que sean candidatos concluyentes, si es cierto que se ha visto que es la interacción de varios productos génicos los que pueden desencadenar un aumento de susceptibilidad de padecer EM, concretamente aquellos localizados en la región del cromosoma 6 que codifica el MHC de tipo II [5].

Métodos de rastreo genómico han puesto igualmente de manifiesto la importancia del gen del receptor de la IL-7, así como genes que cumplen una función importante en la homeostasis y la neuroprotección, como desencadenante de la enfermedad y determinante de su desarrollo [5]. Igualmente, existe un trastorno hereditario monogénico, que consiste en una mutación en el gen codificante del receptor del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), una citoquina, y que consiste en la sustitución de una arginina por una glutamina en la posición aminoacídica 92, por lo que se la conoce como mutación R92Q del gen TNFRSF1A [6].

2.2. Factores ambientales

El hecho de que estos jueguen un papel clave en el desarrollo de la afección se pone especialmente de manifiesto cuando individuos genéticamente idénticos (gemelos univitelinos) no exhiben un 100% de concordancia a la hora de presentar EM [5]. Las principales causas ambientales se pueden resumir en tres grupos:

1. Mejora de las condiciones higiénico-sanitarias. Aunque pueda parecer paradójico, tiene que ver con una hipótesis que postula que un retraso o disminución en la exposición a agentes infecciosos, conlleva una falta de protección frente a enfermedades autoinmunes. Esta hipótesis viene avalada porque en zonas del mundo con mejores condiciones sanitarias se produce un incremento de las enfermedades autoinmunes, porque modelos animales alimentados en condiciones libres de ciertos patógenos también presentan un aumento de estas enfermedades, y porque los cambios sanitarios que se han dado en las últimas décadas han venido acompañados de un acrecentamiento de las mismas [5].
2. El cambio de latitud genera una mayor incidencia de la EM conforme nos alejamos del ecuador. Así,

una menor exposición al sol (característica de latitudes mayores), generaría una disminución en la biosíntesis de vitamina D, la cual puede actuar como un regulador del sistema inmunitario y melatonina, además de afectar la capacidad de presentación de antígenos por las células presentadoras de antígenos (APCs), lo que afectaría a los linfocitos que reconocen antígenos propios y aumentando así la susceptibilidad a padecer enfermedades autoinmunes, como la EM [2], [5].

3. Los agentes infecciosos como el virus del herpes y el de Epstein-Barr, dado que se ha encontrado la presencia de los mismos, especialmente el último, en casi el 100% de los pacientes con EM [5].

3. MECANISMOS INMUNOLÓGICOS

El proceso inflamatorio en la MS es promovido por citoquinas inflamatorias que proceden de dos fuentes distintas: las propias células inmunes y células locales como la microglía activada [1].

Como se ha mencionado, la MS es una enfermedad autoinmune mediada por linfocitos T autorreactivos, es decir, que reaccionan frente a un autoantígeno. Estos son activados fuera del sistema nervioso central (SNC), es decir, en órganos linfoides periféricos, debido a un fallo en la tolerancia inmunológica, que los hace reactivos contra antígenos del propio organismo, de forma que se convierten en linfocitos T específicos de mielina. Esto conduce a una proliferación y sobreproducción de citoquinas y ciertas moléculas de adhesión que permiten a estas células activadas atravesar la barrera hematoencefálica (Figura 1) [1].

Una vez esto ha ocurrido, las APCs locales presentan el antígeno propio (mielina) mediante el MHC de clase II a los linfocitos T ayudantes específicos de mielina, los cuales son reactivados (Figura 1) [1].

Por un lado, se ha postulado que al ser reestimulados, los linfocitos CD4 tipo 1 (Th1) liberan diversas citoquinas proinflamatorias, como el IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2 o la IL-12 que inducen la proliferación clonal de las células T y la activación de los macrófagos y células de la microglía [5]. Estas células normalmente velan por la integridad del tejido nervioso encapsulando células apoptóticas y productos de desecho para proteger el tejido del sistema nervioso central [1], pero al ser activadas, dan igualmente lugar a la producción de más citoquinas proinflamatorias (TNF α e IL-1 β), así como sustancias neurotóxicas, como óxido nítrico y radicales de oxígeno que contribuyen a dañar la mielina y el axón (Figura 1) [5], [1].

Por otro lado, la inflamación resultante, así como la producción de citoquinas inflamatorias, conducen a la trans migración de linfocitos B activados a través de la barrera hematoencefálica, los cuales generan anticuerpos que desencadenan la respuesta inmune contra las vainas de mielina [1].

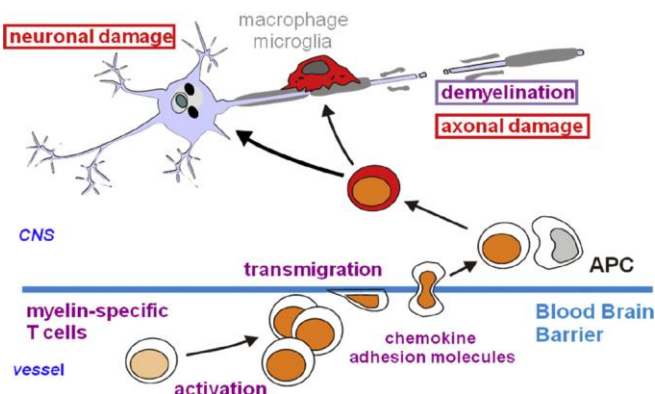


Fig. 1. Esquema de la patogénesis de la EM. Las células T auto-reativas y específicas del antígeno mielina, una vez activadas en órganos linfoides secundarios, lo que aumenta su capacidad proliferativa y de síntesis de moléculas de adhesión, son capaces de migrar a través de la barrera hematoencefálica hasta el SNC, donde son reestimuladas por las APCs. En esta nueva situación, las células Th estimulan la acción de macrófagos y células de la microglía mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias, dando lugar a un proceso de inflamación que causa la desmielinización, el daño en los axones y la pérdida neuronal.

Los linfocitos T citotóxicos (Tc) necesitan de una interacción con el antígeno presentado por el MHC de clase I en las células a las que ataca. Esta proteína está muy regulada en las neuronas y solo se expresa en presencia de ciertas señales como son las citoquinas proinflamatorias, como las que producen macrófagos y células de la microglía. Por tanto, la especificidad del receptor de estas células T por el antígeno presentado en las neuronas es lo que provoca el movimiento de estos linfocitos hacia el tejido, generando el daño neuronal. No obstante, no se ha visto una relación muy directa, aparte de evidencias *in vitro*, entre la acción de los linfocitos Tc y el daño neuronal en la EM. La participación de los linfocitos Th, por el contrario, está más clara en el proceso de autoinmunidad [1].

4. TRATAMIENTO

Aunque los últimos años se han caracterizado por una falta significativa de novedades en cuanto a fármacos terapéuticos, es cierto que existen una gran cantidad de ensayos clínicos con nuevas drogas que podrían salir pronto al mercado [7].

Estas se pueden clasificar atendiendo a dos criterios. Por un lado están las que tienen actividad inmunomoduladora frente a las de actividad inmunodepresora. Por otro lado, también se hace una distinción entre fármacos orales y anticuerpos monoclonales [7].

En primer lugar, los fármacos inmunomoduladores tienen efectos como impedir la migración de los linfocitos y otras células inmunes al SNC. Por ejemplo, el fármaco Fingolimod, que posee una estructura similar a la esfingosina y por tanto es fosforilado del mismo modo que esta, actúa como antagonista de los receptores de esfingo-

sina 1 fosfato situados en linfocitos, impidiendo que estas células salgan de los ganglios linfáticos y atraviesen la barrera hematoencefálica. También Laquinimod que reduce la infiltración de los linfocitos y macrófagos, pero además presenta un efecto antiinflamatorio al aumentar la capacidad de acción de citoquinas antiinflamatorias y también tiene un efecto neuroprotector, pues posiblemente inhiba la actividad de la microglía y los macrófagos y produzca así una disminución de la desmielinización [7].

Estos son fármacos en fases de ensayo clínico, pero hay otros con capacidad inmunomoduladora que se vienen usando desde hace años. Por ejemplo, el IFN β fue el primero en usarse contra la EM, aunque su mecanismo de acción no es del todo conocido. Se sabe que se une a receptores específicos en superficie de células, provocando una serie de fenómenos intracelulares que conduce a la expresión de productos y marcadores [7]. Esto genera un amplio espectro de propiedades inmunomoduladoras, como un cambio en la expresión de citoquinas, una inhibición de la presentación de antígeno, y una supresión de la proliferación y migración de linfocitos T [1]. Por otro lado el AG (acetato de glatirámico) también presenta un mecanismo que no está completamente dilucidado, pero se ha observado que conduce a la activación periférica de células T supresoras [7]. Igualmente, se conoce que produce un cambio en el panorama inmunitario de células Th, cambiando la respuesta presentada por los Th1, a un perfil anti-inflamatorio mediado por Th2. Además, limita la cantidad de células T inhibiendo la migración, proliferación y la apoptosis [1].

Luego están los fármacos que tienen un efecto inmunodepresor, entre los que se encuentran, por mencionar algunos, la Teriflunomida, que inhibe la síntesis de pirimidinas y, por consiguiente, la capacidad de proliferación de linfocitos B y T, la Mitoxantrona que evita las síntesis de DNA, RNA y la actividad de la topoisomerasa II, con lo que inhibe a células B y T, la proliferación de macrófagos, e interfiere en el mecanismo de presentación de antígeno, secreción de IFN gamma, TNF e IL-2 (citoquinas proinflamatorias secretadas por Th1), y los anticuerpos monoclonales. Estos suelen estar dirigidos contra marcadores de superficie de células inmunes, produciendo un efecto citotóxico en las mismas que acaba por desencadenar la lisis de estas células (células B, T, NK y monocitos) [7].

5. CONCLUSIONES

La esclerosis múltiple, al igual que varias enfermedades de carácter autoinmune, resulta aún hoy un enigma en cuanto a las causas últimas que desembocan en la aparición de la enfermedad y su desarrollo. Aunque se han identificado algunas causas genéticas que aumentan la susceptibilidad de padecer la enfermedad y se ha determinado que los factores ambientales suponen un desencadenante, todavía queda mucho por esclarecer en cuanto a las mutaciones que pueden provocar dicho efecto, ya que están implicados un número muy elevado de genes. También queda por resolver el mecanismo celular exacto que conduce a la desmielinización y a la neurodegenera-

ción que acompañan a esta enfermedad. Por consiguiente, pueden ser necesaria una mayor inversión en realizar rastreos genéticos, en busca de mutaciones, en pacientes con EM, así como más ensayos celulares (*in vitro*) y con modelos animales para arrojar algo más de luz sobre las causas y el desarrollo de esta afección.

El conocimiento de los desencadenantes genéticos y los mecanismos celulares subyacentes de las células del sistema inmune tendría efectos positivos en la búsqueda de nuevos fármacos, cuya diana de acción sea más específica, y que se centren más en procesos de inmunomodulación que en los de inmunodepresión, para evitar así un debilitamiento del sistema inmune que conduzca a efectos secundarios no deseados, como el origen de infecciones oportunistas.

REFERENCIAS

- [1] E. Zindler and F. Zipp, "Neuronal injury in chronic CNS inflammation" *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, vol. 24, pp. 551-562, 2010.
- [2] Web del National Institute of Neurological Disorders and Stroke.
http://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/esclerosis_multiple.htm#curso
- [3] Artículo de Esclerosis Múltiple en Wikipedia.
http://es.wikipedia.org/wiki/Esclerosis_m%C3%BAltiple
- [4] O. Aktas, S. Waiczies and F. Zipp, "Neurodegeneration in autoimmune demyelination: Recent mechanistic insights reveal novel therapeutic targets" *Journal of Neuroimmunology*, vol. 184, pp. 17-26, 2007.
- [5] M. R. Blasco Quílez, A. J. Sánchez López, P.E. Bermejo Velasco and A. García Merino, "Esclerosis múltiple. Factores etiológicos, modelos experimentales, mecanismos patogénicos e inmunopatología" *Medicine*, vol. 10, no. 75, pp. 5069-5078, 2011.
- [6] D. González Morón, M. Kauffman, O. Garcea and A. M. Villa, "Nuevos factores genéticos en la esclerosis múltiple: mutación R92Q en el gen TNFRSF1A y el síndrome autoinflamatorio TRAPS" *Neurología Argentina*, vol. 2, no.1, pp. 29-34, 2010.
- [7] A. Lorenzo-Pinto, C. G. Rodríguez-González and A. Aislariigoitia, "Nuevos tratamientos para la esclerosis múltiple" *Medicina Clínica*, vol. 140, no. 2, pp. 76-82, 2013



Gonzalo Ortiz Álvarez es actualmente estudiante de 4º de Grado en Biotecnología en la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad Pablo de Olavide.

Encefalitis autoinmune. Los anticuerpos como arma de doble filo.

Abril Sánchez Botet

Resumen— Los síndromes neurológicos paraneoplásicos son un grupo poco frecuente y heterogéneo de enfermedades que pueden afectar a cualquier área del sistema nervioso y que tienen en común su asociación a cáncer y una etiopatogenia probablemente autoinmune. Constituyen un grupo de trastornos, producto de anticuerpos contra células de un tumor que son idénticos a antígenos neurales, denominados antígenos onconeurales [2]. A pesar de ser mucho menos frecuentes que otras complicaciones directas e indirectas del cáncer, tienen gran importancia por diversos motivos: pueden ser el síntoma de presentación de una neoplasia, y el tratamiento del tumor puede ser la medida más eficaz para mejorar el síndrome neurológico [1].

Palabras Claves — síndromes neurológicos paraneoplásicos, NMDA, anticuerpos onconeurales, neoplasias.

1. INTRODUCCIÓN

En 2007 se descubrió un tipo de encefalitis relacionada con los anticuerpos contra el receptor NMDA. Estos receptores son canales iónicos dependientes del ligando que son importantes en los procesos de transmisión sináptica y plasticidad neuronal y están compuestos

por dos subunidades: NR1 (al cual se liga la glicina), y NR2 (al cual se liga el glutamato).

La activación exagerada de los receptores NMDA produce excitotoxicidad, un mecanismo que puede producir muerte neuronal y que se ha postulado como un factor importante en la génesis de la epilepsia, demencia y enfermedad cerebrovascular. Por el contrario, una disminución en la actividad de estos receptores puede producir

síntomas de esquizofrenia. El ataque inmunológico a este receptor produce un cuadro clínico característico con síntomas que afectan a varios sistemas y se desarrollan en fases de una manera predecible. Después de un cuadro prodrómico que puede incluir cefalea, fiebre y síntomas del tracto respiratorio o digestivo, los pacientes desarrollan síntomas psiquiátricos prominentes (agitación, manía, alucinaciones, paranoia) que generalmente preceden a crisis convulsivas, y progresan hacia un rápido deterioro del nivel de conciencia, mutismo, catatonía, movimientos anormales faciales, de tronco o extremidades y alteraciones autonómicas. El síndrome suele afectar a pacientes jóvenes. La asociación con tumores depende de la edad y el sexo, con más frecuencia en mujeres mayores de 18 años, que en el 56% de los casos presentan teratoma de ovario. Los teratomas son pequeños tumores benignos denominados caracterizados porque contienen componentes de tejidos que recuerdan los derivados normales de las tres capas germinales. Son raras las ocasiones en las que no se pueden identificar las tres capas a la vez. Los tejidos del teratoma, aunque son normales en sí mismos, pueden ser muy distintos de los tejidos que los rodean. Algunos teratomas contienen pelo, dientes, hueso, e incluso a veces tejidos más complejos.

Sin embargo esta enfermedad no es exclusiva de mujeres jóvenes, habiéndose encontrado también en mujeres adultas y hombres.

El cuadro, a pesar de la situación de gravedad y el importante deterioro neurológico es potencialmente reversible, con una mejoría de los síntomas en cronología inversa a las fases de presentación. Los síntomas responden tanto al tratamiento del tumor, en caso de haberlo, como a la inmunoterapia [3].

2. CASOS CLÍNICOS

2.1. Caso 1

El primer caso se trata de una mujer de 34 años, con síndrome de ovario poliquístico, encontrada en su domicilio con un cuadro de confusión que cedió tras la administración de lorazepam y de difenilhidantoína. La paciente tuvo una buena evolución, y fue dada de alta asintomática bajo tratamiento único de levetiracetam.

El día siguiente al alta, la paciente solicitó de nuevo el ingreso en el hospital. Había sufrido episodios de agitación con importante agresividad hacia familiares cercanos. Refería haber tenido visiones en las que agredía a su hijo. Estaba afebril y no presentaba ningún otro tipo de síntomas. Fue reingresada con el diagnóstico de episodio psicótico. Durante su estancia en planta, la paciente pre-

sentó un empeoramiento progresivo de su situación neurológica. Comenzó mostrándose muy agitada y agresiva, por lo que se inició tratamiento con lorazepam y olanzapina. Su nivel de conciencia fue progresando de una fase de confusión, agresividad y retraimiento hasta una situación de respuesta disociada a estímulos, con ausencia de respuesta al dolor, pero oposición enérgica a la apertura ocular pasiva. Durante este periodo, la paciente presentaba rigidez muscular generalizada con reflejos normales, constantes muecas faciales, movimientos de pataleo de las piernas y postura distónica del brazo derecho.

2.1. Caso 1

El segundo caso se trata de una mujer de 15 años de edad diagnosticada de encefalopatía no filiada en 2005. Presentó alucinaciones visuales, ideación paranoide, agresividad, taquicardia e hipertensión arterial. Tras recibir haloperidol por sus episodios de agresividad, presentó una disminución del nivel de conciencia asociada a posiciones distónicas de las extremidades superiores. Tras recibir metilprednisolona, la paciente se recuperó por completo de sus síntomas. Volvió a su vida normal, con un buen rendimiento escolar.

En junio de 2008 fue ingresada de nuevo por un cuadro de agresividad, conductas impulsivas con amenazas de suicidio, coprolalia, insomnio y alucinaciones visuales complejas. Veía "hombres de barba blanca a cuatro patas". Diversos antipsicóticos fracasaron en el control de los síntomas. Fue diagnosticada de episodio psicótico; se la derivó a un centro psiquiátrico y recibió tratamiento con litio y olanzapina. La paciente regresó al centro psiquiátrico con diagnóstico de psicosis refractaria. Recibió sesiones de terapia electroconvulsiva. Semanas más tarde, se descubrieron anticuerpos anti-NMDAR en una muestra de líquido cefalorraquídeo archivada del episodio de 2005. El cuadro clínico remitió de manera sustancial al disminuir la medicación antipsicótica, y se decidió no pautar inmunosupresores.

En diciembre de 2008, la paciente sufrió una nueva recaída, con episodios de agitación y agresividad. Se pautó tratamiento con metilprednisolona y 5 sesiones de Ig i.v., con mejora limitada de la sintomatología. La paciente fue dada de alta con importantes secuelas. Persistía el trastorno de la personalidad con comportamientos extraños, déficit de atención, impulsividad y ocasionales episodios de agitación y agresividad. Presentaba también dificultades amnésicas, alucinaciones, insomnio y escaso control de esfínteres.

3. DISCUSIÓN

Estos 2 casos ilustran las principales enfermedades con las que suelen confundirse inicialmente los casos de encefalitis anti-NMDAR. La presentación del primer caso con fiebre, cefalea y alteración del nivel de conciencia, acompañadas de una crisis tónico-clónica generalizada y un líquido cefalorraquídeo de características inflamatorias, obliga en primer lugar a descartar un proceso viral.

Los trastornos del movimiento típicos, como muecas orofaciales, movimientos coreiformes, de pataleo o distonías de extremidades señalan el diagnóstico de encefalitis anti-NMDAR.

Los 2 casos presentados tenían síntomas psiquiátricos prominentes. En el segundo, los episodios de agresividad e impulsividad, así como la manifestación de ideación suicida y las alucinaciones, señalaron inicialmente un cuadro psicótico. La psicosis es una alteración de la percepción de la realidad con alucinaciones, desorganización del pensamiento y un trastorno del comportamiento marcado por la impulsividad y la agresividad. Forma parte de numerosos trastornos psiquiátricos, como la esquizofrenia, el trastorno bipolar o la depresión. [3]

3. EL CASO DEL EXORCISTA

La encefalitis anti-NMDAR se ha confundido históricamente con cuadros de esquizofrenia, enfermedades infecciosas e incluso con posesiones demoniacas. Este es el caso de Robbie Mannheim, el joven de 14 años en el que se

basa la novela de William Peter Blatty "The exorcist" que posteriormente sería llevada a la gran pantalla. Debido a este síndrome autoinmune pueden explicarse las torciones forzadas que experimentaba el paciente, así como la desestructuración del lenguaje que se asociaba a conocimiento de lenguas antiguas. Las alucinaciones visuales, conversaciones imaginarias o el convencimiento de contacto directo con el demonio podrían ser signos de la alteración de las proteínas de la superficie celular de las neuronas.

REFERENCIAS

- [1] Web de contenidos en neurología <http://www.neurowikia.es>
- [2] M. A. López "Síndromes neurológicos paraneoplásicos", *Med Int Mex* 2012;28(3):269-277
- [3] J. González-Valcárcel, M.R Rosenfeld, J.Dalmau, "Diagnóstico diferencial en la encefalitis por anticuerpos contra el receptor NMDA". *Neurología* 25: 409-413. 2010



Abril Sánchez Botet es estudiante de cuarto Grado en Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla. Representante del segundo curso de Grado de Biotecnología en 2010-2011, subdelegada de la Facultad de ciencias Experimentales de la universidad Pablo de Olavide en 2011-2012, representante de Junta de Facultad en 2010-2013 y componente del comité de Calidad de Biotecnología en 2010-2012.

Actualmente se encuentra realizando un proyecto de investigación en el departamento de Fisiología Vegetal de la Universidad Pablo de Olavide en el marco del Proyecto de fin de Grado de la Titulación, así como las prácticas de empresa en el CABD.

Los Superantígenos

Álvaro Ritoré Hidalgo

Resumen—Los superantígenos reciben esta denominación debido a su gran capacidad de estimulación de linfocitos T. Estas moléculas, mayoritariamente exotoxinas bacterianas, no sufren el procesamiento típico por las células presentadoras de antígenos, sino que establecen una unión cruzada entre el MHC de tipo II y la cadena lateral del receptor del linfocito T, independiente de la interacción directa que sí se produce con la mayoría de antígenos proteicos. Los superantígenos causan enfermedades como el síndrome del shock tóxico y trastornos como intoxicación alimentaria. Actualmente se están desarrollando aproximaciones terapéuticas y tratamientos experimentales para combatir este tipo de enfermedades.

Palabras Claves— Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), Enfermedades humanas, Linfocito T, Superantígeno, Toxina bacteriana.



1. INTRODUCCIÓN

Los superantígenos (SAGs) son toxinas secretadas por microorganismos, principalmente bacterias, que no requieren de los mecanismos típicos de inducción de respuesta humoral específica y dependiente de los MHC de tipo I o II para estimular a los linfocitos T, ya que no se unen a las regiones variables del receptor del linfocito T (TCR). La capacidad inmunoestimuladora de los superantígenos reside en su unión al TCR no en el sitio específico de antígeno, sino en la cadena lateral beta ($V\beta$), y a la parte externa del lugar propio de exhibición antigénica del MHC de tipo II de la célula presentadora de antígeno (APC), de forma que no sufren ningún tipo de procesamiento. De esta manera, se produce un complejo trimole-

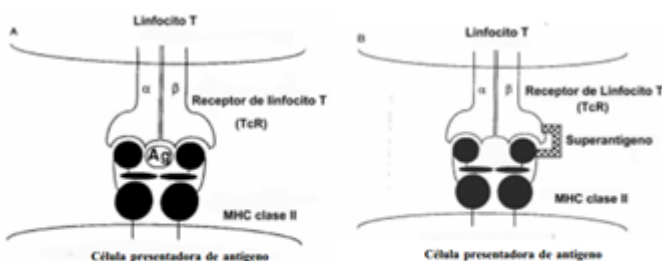


Fig. 1. Interacción del MHC de clase II de la célula presentadora de antígeno y el TCR, con el antígeno en el interior de la estructura (a), y el complejo ectópico mediado por el superantígeno (b).

cular ectópico por la formación de un puente entre el MHC de tipo II y el TCR (Fig. 1).

La denominación de superantígeno procede de su eficiente capacidad de estimulación de un gran número de linfocitos T, ya que si bien un antígeno proteico convencional abundante en epítomos (región pequeña de la molécula susceptible de ser reconocida específicamente por el sistema inmunitario) es capaz de estimular a un 0,1-1% del total de linfocitos T, los SAGs consiguen activar al 5-25% de los mismos, tanto CD4 (Th) como CD8 (Tc). Además, son activos a muy baja concentración [1].

2. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA

Los superantígenos pueden dividirse en SAGs endógenos, codificados por virus integrados en el genoma, como el MMTV (*mouse mammary tumor virus*) y el virus de Epstein-Barr (VEB); SAGs exógenos, toxinas secretadas por microorganismos, siendo los más caracterizados y frecuentes las exotoxinas bacterianas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*; y los superantígenos de células B, que estimulan preferentemente a células B, como la proteína A estafilocócica [2].



TSST

Fig. 2. Estructura molecular del superantígeno TSST-1 de la base de datos PROSITE [3].

Los superantígenos son proteínas globulares de 22-29 kDa resistentes a las proteasas y a la desnaturalización por calor con capacidad de atravesar el epitelio como moléculas inmunológicamente inertes. Mediante cristalografía de rayos X y/o resonancia magnética nuclear se ha analizado la estructura tridimensional de los SAGs (Fig. 2). Los SAGs presentan un dominio terminal amino y otro carboxilo, con una α -hélice soluble en el centro de la estructura [2].

3. SUPERANTÍGENOS Y ENFERMEDADES HUMANAS

La respuesta inmunológica que desencadenan los superantígenos cuando se unen de forma cruzada al TCR y al MHC de clase II se caracteriza por la liberación sistémica de una gran cantidad de moléculas co-estimuladoras, como citoquinas proinflamatorias, lo que puede llegar a causar trastornos graves como el síndrome del shock tóxico (TSS), que puede derivar en última instancia en un fallo multiorgánico y provocar la muerte. Los SAGs también están relacionados con la patogénesis de la artritis, el asma, la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad de Kawasaki, fiebre reumática, etc. A continuación vamos a explicar algunas de los trastornos y enfermedades humanas causadas por los superantígenos [3].

-Intoxicación alimentaria. La familia de superantígenos de la toxina piógena puede provocar intoxicación alimentaria, principalmente por las toxinas gastrointestinales estafilocócicas SEA-SEE y SEG-SEI. Estas moléculas actúan como mitógenos, es decir, factores que estimulan la división de muchos tipos celulares. La enterotoxina de *Staphylococcus aureus* (Fig. 3) es probablemente uno de los mitógenos conocidos de linfocitos T más potentes, con cantidades inferiores a μg (10^{-13} a 10^{-16} M) para desencadenar respuestas adversas tales como vómitos, diarrea, náuseas o fiebre. Otros superantígenos de esta familia son el superantígeno estreptocócico (SSA) y algunas exotoxinas piógenas estreptocócicas (SPE) y, aunque todos ellos presentan una estructura similar, cada uno de ellos reconoce y activa linfocitos T con diferentes cadenas $V\beta$. El mecanismo por el cual actúan estas sustancias superantigénicas se basa en la activación oligoclonal (respuesta

intermedia entre monoclonal y policlonal) de los linfocitos T, con un exceso de liberación de IL-2 [3], [4], [5].

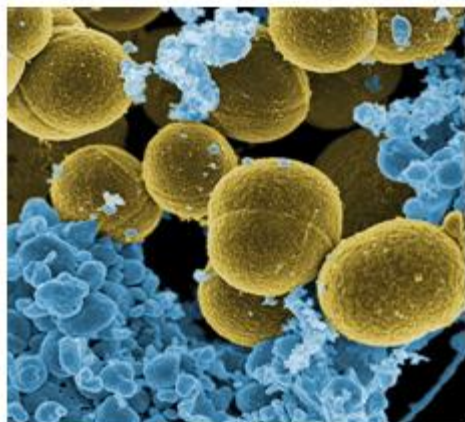


Fig. 3. *Staphylococcus aureus* evadiendo el sistema inmune (leucocitos humanos).

-Síndrome del shock tóxico (TSS). Trastorno causado principalmente por la toxina de *S. aureus* (TSST) que incluye síntomas como hipotensión, erupción eritematosa, fiebre o descamación, como resultado de la reacción inmune mediada por TNF- α (factor de necrosis tumoral, citoquina liberada por las células inmunitarias en procesos como la inflamación) tras el contacto con el superantígeno bacteriano, además de IL-2 y linfotoxinas, leucotrienos por los mastocitos, etc. La infección se puede producir por vía cutánea, faríngea o vaginal, esta última debido al uso de tampones de alta absorbencia, ya que TSST, a diferencia de otros superantígenos, tiene la capacidad de atravesar la mucosa.

Este síndrome también puede estar causado por *S. pyogenes*, la forma más grave de enfermedad estreptocócica (STSS, *Streptococcal toxic shock syndrome*), con una tasa de mortalidad de hasta el 50% [3], [4].

-Enfermedad de Kawasaki. Enfermedad aguda multisistémica de etiología desconocida que afecta principalmente a bebés y niños jóvenes del mundo desarrollado, que se caracteriza por una inflamación en los vasos sanguíneos o vasculitis, cuyas manifestaciones clínicas solapan con el TSS, STSS y la fiebre escarlata, enfermedad infecciosa producida por *S. pyogenes*. La enfermedad de Kawasaki está asociada a una gran activación de linfocitos T y monocitos. El tratamiento con inmunoglobulinas por vía intravenosa ha demostrado ser eficaz cuando se administra en una fase temprana, lo que probablemente se deba a que el agente infeccioso es una toxina [2], [3].

-Enfermedades autoinmunes. Se ha propuesto la posibilidad de que los superantígenos estén involucrados en otras enfermedades relativas al sistema inmune, como la autoinmunidad, un fenómeno producido cuando se pierde la tolerancia inmunológica y los clones de linfocitos T autorreactivos del sistema inmune responden frente a antígenos propios. Esto puede estar provocado por la activación de linfocitos T anérgicos (linfocitos inactivados por la ausencia de la segunda señal) auto-reactivos. Esta

hipótesis surgió a partir de un modelo de ratón con esclerosis múltiple, de manera que el ratón sufría una recaída en la enfermedad autoinmune cuando se le administraba el superantígeno SEB (enterotoxina estafilocócica B), observando una estimulación directa de cadenas V β 3 auto-reactivas [3].

Una de las preguntas que se formulan a raíz del estudio de los superantígenos es por qué sólo un pequeño porcentaje de los individuos desarrolla la sintomatología completa de este tipo de enfermedades, mientras que la gran mayoría muestra síntomas menores, si bien en todos ellos se produce la estimulación oligoclonal de los linfocitos T. Este fenómeno puede deberse a las diferencias genotípicas (genes *spe-a* o *spe-c*) en las enfermedades estreptocócicas y/o a la falta de una correcta respuesta de anticuerpos neutralizantes frente a superantígenos específicos. También puede estar provocado por las diferencias alélicas del MHC o HLA (*Human Leukocyte Antigen*) del individuo, que alteraría la susceptibilidad de la aparición de toxicidad por la unión MHC-SAg, de forma que determinados haplotipos serían más propensos de conferir una mayor protección [3], [5].

4. TERAPIAS Y TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES

Actualmente están disponibles una serie de fármacos para el tratamiento de enfermedades causadas por superantígenos. El acetato de glatiramer es un copolímero sintético que se utiliza para disminuir la proliferación de células mononucleares en la sangre periférica y la secreción de moléculas como IFN- γ y TNF- α . Una alternativa que presenta cierto éxito, aunque con una efectividad variable, es el tratamiento intravenoso con una combinación de inmunoglobulinas humanas (IVIG, *Intravenously-administered pooled human immunoglobulin*), capaz de neutralizar los superantígenos circulantes y reducir la respuesta inflamatoria sistémica en ratones. Otros fármacos son la doxiciclina y la anisodamina [2], [6].

Algunos tratamientos en estado experimental son el fármaco pifrenidona, capaz de reducir in vitro los niveles de citoquinas liberados por linfocitos T tras el contacto con el superantígeno SEB, o los isómeros de ketamina, que logra disminuir la producción de TNF- α . La transferencia pasiva de inmunoglobulina Y de gallina contra SEB también consigue suprimir la secreción de citoquinas en ratones [2].

5. CONCLUSIONES

El estudio de la estructura y los mecanismos moleculares por los que actúan los superantígenos para desencadenar la reacción inmunológica que termina con la activación de linfocitos T y la liberación de citoquinas inflamatorias está siendo un relevante campo de investigación en los últimos años, tanto para la prevención de trastornos como la intoxicación alimentaria o el shock tóxico, como su tratamiento, para lo que hay que tener en cuenta otros factores ajenos al patógeno pero no por ello menos importantes,

como el genotipo del individuo.

REFERENCIAS

- [1] Dr. Federico Moscardi. Antígenos y Superantígenos. Hospital Privado de Comunidad. Córdoba. Adaptado de Roitt, Brostoff Male Immunology. Mosby Editor. Londres 1998.
- [2] Solanki LS, Srivastava N, Singh S. Superantígenos: a brief review with special emphasis on dermatologic diseases. *Dermatol Online J.* 2008; 14:3.
- [3] Proft T, Fraser JD. Bacterial superantígenos. *Clin Exp Immunol.* 2003; 133(3):299–306.
- [4] Peter J. Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M.

Roitt. *Inmunología. Fundamentos*. Editorial Medica panamericana. 11ª edición. pp. 116, 2006

- [5] E. Quirós, A. Sottini, A. Bettinardi, S. Mattioli, D. Prilni y L. Imberti. "Superantígenos y enfermedades humanas". <http://revista.inmunologia.org/Upload/Articles/3/6/369.pdf>
- [6] Sundberg E.J., Deng L., Mariuzza R.A. TCR recognition of peptide/MHC class II complexes and superantígenos. *Semin. Immunol.* 2007; 19:262–271.



Álvaro Ritoré Hidalgo.
4º Grado en Biotecnología

Creación de vacuna de "Virus-Like Particles" para la enfermedad de la Hepatitis E

Celia María Muñoz Jimenez

Resumen— En el siguiente artículo se estudiará la necesidad de la creación de vacunas ante diversas enfermedades, concretamente, ante la Hepatitis E..

Palabras Claves— Enfermedad, Hepatitis E, Vacuna, Virus, VLP



1. INTRODUCCIÓN

La hepatitis E es una enfermedad que se está introduciendo cada vez más en los países desarrollados, pasando desapercibida ante los posibles diagnósticos. Por ello, resulta importante que el mensaje esté presente en la sociedad, sobre todo entre aquellas personas que estén en contacto con posibles focos directos de infección, como son trabajadores que trabajan con ganadería (cerdos), sin olvidar a toda la población que realiza desplazamientos hacia zonas del mundo que se comportan de forma endémica con respecto a la hepatitis E. Como consecuencia de la transmisión de este virus, se hace imprescindible la creación de una vacuna que prevenga frente a esto.

2. HEPATITIS E

2.1. Características del virus y de la enfermedad

El virus causante de la hepatitis E es de ARN monocatenario positivo [ssRNA(+)] sin envuelta, encuadrado dentro del grupo IV de la clasificación de Baltimore, género *Hepevirus*.

La hepatitis E se considera una enfermedad autolimitada, de curación espontánea. No obstante, se puede tornar fulminante (insuficiencia hepática aguda), necesitando tratamiento hospitalario urgente.

Los signos y síntomas principales característicos de esta

enfermedad son: fiebre, náuseas, vómitos, ictericia, hepatomegalia, dolor abdominal, pérdida de apetito.

La principal vía de transmisión es la fecal-oral a través de agua no saneada. Esto se da, fundamentalmente, en aquellas zonas del mundo que no cuenta con sistemas de depuración de agua. Otras formas de transmisión recogidas son la ingesta de alimentos contaminados así como la zoonosis, que consiste en la transmisión de la enfermedad desde animales infectados hacia humanos sanos.

Actualmente, no existe tratamiento para alterar el curso de la enfermedad. De este modo, la solución más eficaz es la prevención, para lo cual se tratará de desarrollar una vacuna eficaz contra la infección por hepatitis E.

2.2. Diseminación mundial

Los principales focos de infección de la hepatitis E, como se ha visto en el apartado anterior, son aquellos países que no cuentan con suficientes sistemas para sanear el agua que se consume. Con esto, las aguas de dichas zonas se contaminan de varias formas, entre ellas, por el virus de la enfermedad que se trata en este artículo.

Esto no debería suponer un problema para los países desarrollados, pues sus aguas están tratadas y depuradas correctamente. Sin embargo, el problema se halla en los continuos desplazamientos por parte de la población ha-

cia países endémicos para la hepatitis E, enfermedad que luego puede ser diseminada por el país desarrollado. Esta vía de transmisión parece ser la más común. Sin embargo, en los últimos años se está teniendo más conciencia del fenómeno de la zoonosis, habiéndose demostrado que tiene lugar una transmisión horizontal y directa del virus de la hepatitis E desde cerdos a personas (que los manipulan). Además, todo aquel que consuma la carne del cerdo podría contagiarse con el mismo virus. Por todo esto, resulta evidente la necesidad de desarrollar estrategias para detectar la enfermedad en aquellas personas que se exponen al virus tanto de forma directa como indirecta así como de dar posibles soluciones para paliar esta enfermedad.

3. VACUNA DE VIRUS-LIKE PARTICLE (VLP)

Para dar solución a este problema, investigadores desarrollan una vacuna basada en virus-like particles, una vacuna que no está formada por el agente infeccioso completo y permite la diferenciación serológica de los animales vacunados frente a los enfermos, resolviendo los problemas actualmente existentes con la utilización de las vacunas convencionales. Se ha demostrado que estas vacunas presentan un potencial significativo para provocar una respuesta inmune fuerte y prolongada. Así, las VLP son partículas similares a los virus pero no son infecciosas, ya que no tienen el material genético viral. La expresión de las proteínas estructurales del virus pueden resultar en el autoensamblaje de las VLP. La estrategia para obtener estas vacunas se basa en identificar la proteína o proteínas del agente infeccioso que induciría la respuesta inmune protectora de forma semejante a la que induciría el agente infeccioso completo. En nuestro caso, las proteínas de la cápsida son las responsa-

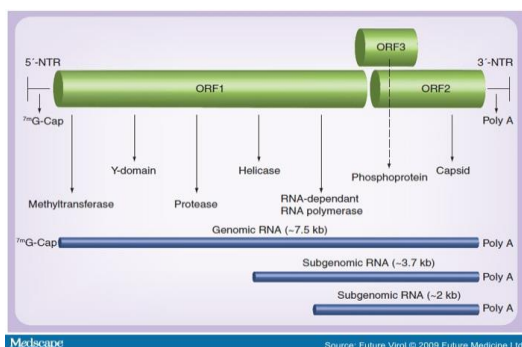


Fig. 1. Tres ORF que componen el virus de la hepatitis E, siendo la ORF2 la que codifica para las proteínas de la cápsida, por tanto es esta fase abierta de lectura la que interesa para la construcción de VLP, ya que la cápsida es la que presenta capacidad antigénica, responsable de generar la respuesta inmune en el paciente.

bles del autoensamblaje de las VLP, pues es en la cápsida del virus donde se encuentra el antígeno responsable de generar la respuesta inmunitaria en los individuos vacunados. El hecho de desarrollar estas vacunas contra esta enfermedad supone una serie de ventajas. En primer lugar, la VLP del virus de la Hepatitis E recombinante se compone de una sola proteína que se ensambla en partículas sin

ácido nucleico, lo que le hace incapaces de replicarse. Además, las VLP de este virus son fáciles de preparar y purificar en grandes cantidades. Resultan antigénicamente similares a la del virión nativo y son altamente inmunogénicas en animales experimentales cuando se inyectan por vía parenteral. Por otra parte, son estables a un pH bajo, como el del estómago, lo cual supone una ventaja. Además, la infección por el virus de la Hepatitis E natural se produce a través de la vía fecal-oral, por lo que la ad-

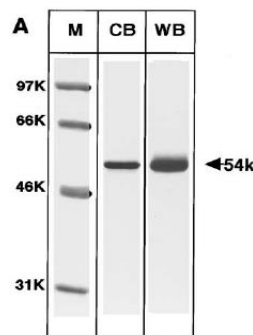


Fig. 2. Resultado de la electroforesis SDS-PAGE (CB) y del Western Blot de suero de un paciente con Hepatitis E.

ministración oral de VLP del virus de la hepatitis E podría inducir las mismas respuestas inmunes que ocurren en la infección natural.

Para evaluar el potencial de VLP del virus recombinante de la hepatitis E como inmunógeno oral, los autores analizan la respuesta inmune en suero de IgM, IgG e IgA y de IgA fecal en ratones tras la administración oral.

Los ratones se inocularon por vía oral cuatro veces con VLPs del virus de la hepatitis E purificadas a distintas concentraciones y sin adyuvante y se vio la respuesta que había.

El genoma del virus de la hepatitis E consiste en tres ORF (fig.1), de las cuales, la ORF2 es la que codifica para proteínas de la cápsida y son las que presentan capacidad antigénica. Las proteínas de la cápsida del virus de la hepatitis E con sus 111 aminoácidos N-terminales truncados se expresaron con un baculovirus recombinante en células de insecto, donde las proteínas de la cápsida se ensamblaron en VLPs.

4. RESULTADOS

4.1. Electroforesis SDS PAGE y microscopía electrónica. Análisis de Inmunoglobulinas (ELISA)

Hasta ahora se habían estudiado las VLPs para VHE por criomicrografía electrónica, viendo que estas partículas tenían un tamaño de 50 KDa. En el estudio realizado, se ha estudiado por SDS-PAGE y por Western Blot, obteniendo por ambas técnicas una banda de 54KDa, correspondiente con las VLPs (fig.2). aunque el tamaño era distinto, las VLP eran iguales en morfología a las caracterizadas por criomicrografía. La diferencia de tamaño se debía al uso de distintas condiciones en las distintas técnicas.

Para comprobar el potencial de las VLPs, se ha testado su

capacidad inmunogénica en ratones BALB. Para ello, se ha medido la cantidad de IgG, IgA e IgM en suero, así como la IgA fecal. Esto es necesario para saber si las VLPs son capaces de inducir la respuesta en mucosa. Para detectar estas inmunoglobulinas se hacen ensayos ELISA, en los que se mide el título geométrico medio, que es el método más usado para medir anticuerpos.

En primer lugar, se ha realizado el ensayo administrando la posible vacuna oralmente y sin adyuvante. Para las mediciones, se toman muestras antes de la administración, siendo negativas para todas las Ig medidas, así como para los controles negativos, en los que sólo se ha administrado PBS. Se administraron dosis de 10g, 50g y 100g en los días 12, 24 y 48.

Los resultados obtenidos en este caso han sido para la IgM en suero es que el título de anticuerpos alcanza su máximo a las dos semanas y posteriormente disminuye hasta llegar a su nivel basal a las 9 semanas.

En cambio, la IgG empieza a aumentar el título a partir de la cuarta semana de administración, momento en el que se empieza a observar una notable diferencia entre las distintas dosis aplicadas.

En el caso de la IgA en suero, el título de anticuerpos alcanza el máximo a las 8 semanas y, al igual que para la IgG, los niveles para la dosis de 10g fueron más bajos.

De estos resultados podemos deducir que las VLPs son inmunogénicas cuando se administran por vía oral y no necesitan adyuvante de la mucosa para desencadenar una respuesta en suero.

Para evaluar la respuesta a nivel de mucosa, se han analizado muestras fecales de ratones, en las que el título de IgA fuese parecido al obtenido en suero. Al igual que en el caso anterior, se obtuvo el título máximo a las 8 semanas y los niveles a una dosis de 10g fueron inferiores a los de las dosis de 50g y 100g.

También se ha comparado la respuesta producida por la administración de VLPs vía oral y vía intraperitoneal. Para ello se administran dosis de 50g por vía oral y de 10g y 50g vía intraperitoneal en los días 11, 22, 44 y 80.

En el caso de la IgG, se obtuvo un título muy alto para las dosis administradas por vía intraperitoneal, siendo mayor que en la administración oral, por lo que para inducir la respuesta de IgG, sería mejor usar la vía intraperitoneal.

Por el contrario, no se ha detectado respuesta de la IgA en suero ni en mucosa cuando las VLPs se administraban oralmente. Esto hace pensar el hecho de que la administración intraperitoneal no es una buena alternativa a la posible vacuna. Además, al administrar las VLPs por vía oral, se detectó una bajada brusca del título de IgA fecal, que aumentó al dar otra nueva dosis en el día 80, resultando una vacuna efectiva, ya que aumenta muy rápido.

4.2. Reactividad y especificidad

Se realizó también un ensayo de Western Blot para comprobar la reactividad de IgG en suero, obteniendo una banda oscura de 54KDa para los sueros resultantes de la administración intraperitoneal y de la oral. Esta banda se corresponde con las proteínas de la cápsida con la región N-terminal truncada. Esto demuestra que las VLPs produjeron una respuesta similar al administrarlas de forma

oral o intraperitoneal.

Para caracterizar mejor el anticuerpo inducido por la administración oral de las VLPs, se realizó un ensayo ELISA, en los que se usaron antígenos de mono infectado (con el virus silvestre) y los anticuerpos de ratones, que han sido infectados oralmente a intraperitonealmente (con las VLPs del VHE). En muestras preinfectadas no se obtuvo reactividad, pero en muestras de individuos infectados de forma oral e intraperitoneal, se obtuvo una DO elevada. Esto demuestra que las IgG producidas contra las VLPs del VHE eran específicas de este virus y capaces de unirse al antígeno nativo.

Se realizaron los mismos ensayos para la IgA fecal y, como era de esperar, no se encontró la banda de 54kDa en las muestras de administración de VLPs intraperitoneal ni DO notable, ya que en este caso no se producía respuestas de estos anticuerpos. Esto demuestra que la IgA fecal específica de VHE sólo se obtuvo cuando las VLPs se administraban de forma oral.

5. CONCLUSIONES

Para el virus de la hepatitis E es importante que la vacuna genere respuesta de mucosa ya que la infección de este virus ocurre por la ruta oral-fecal. Así, tendríamos una primera línea de defensa en el tracto intestinal reduciendo la infección del virus. Además, es importante que la vacuna no solo genere una respuesta local en el tracto intestinal, sino que también debe generar una respuesta sistémica, a nivel del resto del organismo.

En el desarrollo de otras vacunas basadas en VLP, para aumentar la respuesta a nivel de mucosa se han utilizado adyuvantes derivados de toxinas. Sin embargo, estos adyuvantes pueden generar efectos secundarios como diarrea. Para solucionar esto, se están empezando a desarrollar VLP quiméricas en las que se añaden epítomos de otros virus para aumentar la respuesta. Sin embargo, esto puede provocar que la VLP no se ensamble bien por lo que es una gran ventaja conseguir una vacuna que genere una gran respuesta sin necesidad de añadir adyuvante.

Por último, el hecho de que la administración de la vacuna sea por vía oral también presenta ventajas, ya que permite que llegue a la mucosa y se puede administrar fácilmente reduciendo los costes de producción ya que no se necesita personal para administrar las inyecciones.

Recapitulando lo que hemos visto a lo largo del artículo, sería importante comprobar si pacientes con fallo hepático fulminante inexplicable presentan hepatitis E ya que se ha visto que el 21% de los pacientes con fallo hepático sin explicación presentaban hepatitis E. De los pacientes con Hepatitis E, podemos distinguir aquellos que han viajado a países endémicos, que presentan un genotipo más virulento y aquellos que no, que constituyen el 16,5% y presentan un genotipo más leve. Dentro de este grupo, destacan mujeres embarazadas que son más propensas a contraer esta enfermedad así como mujeres que tomen anti-

conceptivos. Además, debido a la posible zoonosis, la hepatitis E es común en personas que están en contacto continuo con cerdos como granjeros o veterinarios, así como personas que beban agua sin tratar, lo que puede explicarse por el uso de los excrementos de los cerdos como abono de forma que el virus puede pasar a las aguas subterráneas.

Debido a que la infección por hepatitis E origina unos síntomas leves, el problema de la transmisión del virus desde los cerdos a los humanos no se ha hecho mediático ya que los síntomas aparecen al contraer otra enfermedad. De hecho, el estudio realizado en España a los granjeros se llevó a cabo con personas que no mostraban síntomas y se vio que el 18,8% de los que estaban en contacto continuo con cerdos, mostraban anticuerpos antiHEV demostrando que han estado en contacto con el virus.

Para solucionar este problema sería interesante desarrollar una vacuna para los cerdos ya que se han realizado estudios que indican que aproximadamente el 50% de los cerdos europeos presentan anticuerpos anti-HEV. Ade-

más, se ha detectado ARN viral en hígados de cerdos comerciales en varios países y se han reportado casos de transmisión de hepatitis E por consumo de carne cruda o poco cocinada.

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] Tian-Cheng Li *, Naokazu Takeda, Tatsuo Miyamura (2001). Oral administration of hepatitis E virus-like particles induces a systemic and mucosal immune response in mice. Elsevier.

[2] Tyagi, S., H. Korkaya, M. Zafrullah, S. Jameel, and S. K. Lal. 2002. The phosphorylated form of the ORF3 protein of hepatitis E virus interacts with its non-glycosylated form of the major capsid protein, ORF2. J. Biol. Chem. 277:22759-22767.

7. BIOGRAFÍA



Celia María Muñoz Jiménez.
Estudiante y matriculada actualmente en cuarto curso del grado en Biotecnología.

Síntesis de vacunas recombinantes en algas

Ana Galindo García

Resumen— La malaria, situación mundial y tratamiento actuales contra la enfermedad. Tipos de vacunas contra la enfermedad. Destacando las vacunas recombinantes por subunidades que bloquean la transmisión y son sintetizadas en biofactorías, algas.

Palabras Claves— Biofactoría, *Chlamydomonas reinhardtii*, Malaria, *Plasmodium falciparum*, Vacuna recombinante

1. INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad devastadora que, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), provocó en 2010 el fallecimiento de 655.000 personas [1]. La también denominada paludismo, es una enfermedad vectorial en la que el mosquito hembra, del género *Anopheles*, al alimentarse de la sangre humana transmite un protozoo parásito de la especie *Plasmodium*, afectando con mayor virulencia en los países menos desarrollados.

El mosquito es portador de esporozitos de *Plasmodium* en sus glándulas salivales, que al picar a una persona, se transfieren hasta las células hepáticas y posteriormente al torrente sanguíneo donde provocan la ruptura de los eritrocitos[2],[3].

2. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

En la actualidad, uno de los tratamientos más extendidos para tratar la malaria, es la terapia combinada con artemisinina[3], que se basa en una adición sinérgica de dos o más fármacos para mejorar la eficacia y retrasar el desarrollo de resistencia hacia los mismos. En el caso del paludismo se emplean fármacos esquistozidas en el torrente sanguíneo con mecanismos independientes y diferentes dianas bioquímicas en el parásito [3],[4]. No obstante, existen una serie de retos a superar como son la elección de la combinación de fármacos idónea (se puede escoger entre varios derivados de la artiminisina como arteméter, artesunato y arteéter), el coste de la terapia combinada, obstáculos de implementación y el tiempo que supondría dicha introducción. Además, es fundamental evitar tra-

tamientos basados exclusivamente en artemisinina ya que existen indicios de que Plasmodium puede desarrollar resistencia al fármaco.

Para paliar los efectos de la enfermedad no solo es necesario conocer un tratamiento para su cura sino una campaña de prevención, aumentar la atención médica y esquivar dificultades económicas para acceder a los medicamentos. Las primeras medidas que se deben adaptar son el empleo de mosquiteras y evitar zonas de agua estancada donde prolifera el insecto. Pero más allá de esta primera línea de precauciones urge encontrar una vacuna eficaz y eficiente con el objetivo de conferir protección ante la enfermedad [1], [5], [6].

Tradicionalmente, las vacunas han consistido en patógenos atenuados o muertos pero no son tan prácticas como aquellas que presentan subunidades específicas inmunogénicas, que pueden ser proteínas recombinantes o péptidos sintetizados que son reconocidos por el sistema inmune como proteínas nativas del patógeno y confieren protección. Se consideran más seguras ya que no existe el riesgo de que la proteína se vuelva virulenta, aunque por lo general el coste de fabricación de estas es superior al que se pueden permitir los países donde la incidencia de la enfermedad es mayor [6].

Por tanto, es imperativo encontrar sistemas de producción que disminuyan el coste para conseguir reducir los casos de malaria. Para ello es implícito dejar atrás los arraigados biorreactores y dar paso a un nuevo tipo de síntesis industrial: las biofactorías. Y, así poder sintetizar subunidades proteicas constituyentes de la vacuna [6],[7].

3. TBV. VACUNAS DE BLOQUEO DE TRANSMISIÓN

Actualmente están estudiando tres líneas de vacunas contra la malaria. Una de ellas es antígenos pre-eritrocíticos, la segunda consta de antígenos eritrocíticos y por último los antígenos que bloquean la transmisión de la enfermedad. Estas vacunas contra la malaria que previenen la transmisión son las denominadas TBV, cuyas proteínas diana pueden ser tanto del parásito, que incluyen multitud de proteínas de superficie (Pfs) entre las que destacan Pfs25, Pfs28, Pfs230 y Pfs48/45, como del vector, centrándose en los antígenos de superficie del intestino del mosquito [6], [7].

Las proteínas de superficie Pfs25 y Pfs28, proteínas aglicósiladas con cuatro tandems del factor de crecimiento epidérmico con 6 puentes disulfuro, que bloquean la maduración del parásito evitando la formación de esporozitos y previniendo su transmisión. Siendo Pfs25 capaz de elicitar anticuerpos mientras que Pfs28 se ha descartado por su tardía aparición en el desarrollo del parásito.[2] Por el contrario, la temprana aparición de Pfs48/45 en el desarrollo del parásito en los gamentos [7]. Adicionalmente, los estudios de Ouédraogo et al. [8] sugieren que la exposición o presencia en el ser humano de este anti-

geno provoca cierto grado de inmunidad natural.

4. BIOFACTORÍAS

Las biofactorías son sistemas de expresión biológicos de proteínas y su empleo implica una reducción del presupuesto para la síntesis de vacunas de subunidades [2]. Cada sistema presenta una serie de ventajas y desventajas a considerar antes de realizar la elección. Los sistemas más habituales son plantas, levaduras y bacterias, aunque, recientemente, ante las ventajas de coste, escalabilidad, cortos tiempos de generación, plegamiento y procesamiento de proteínas, se han desarrollado novedosas plataformas de producción como algas o insectos (sistema baculovírico en larvas del gusano de la seda)[2],[9],[10].

Las microalgas, al ser organismos unicelulares, tienen tiempos de generación más cortos que las plantas y son más manipulables. Además, se han utilizado para sintetizar anticuerpos monoclonales. Con respecto a las bacterias, las microalgas sí son capaces de producir proteínas complejas en tandems. Y en relación con levaduras, se ha demostrado que en Escherichia Coli también se producían modificaciones post-traduccionales en las proteínas provocando la aparición de múltiples conformaciones que resultaron ser alérgenos en ensayos clínicos en humanos [2].

Los cloroplastos del alga unicelular Chlamydomonas reinhardtii son capaces de expresar complejas proteínas, como las Pfs. Carecen de maquinaria de glicosilación lo que es fundamental para la producción de Pfs ya que Plasmodium es uno de los pocos eucariotas incapaz de sintetizar N-glicosilaciones. Presenta una ventaja esencial: no contiene contaminantes (virus, priones) como otras plataformas y son organismos prometedores para la síntesis de proteínas no-glicosiladas con puentes disulfuro [9].

Por último comentar que la biomasa de algas es una fuente "low cost" ya que son de gran interés en la industria de los biocombustibles.

5. CONCLUSIÓN

La producción de vacunas recombinantes contra la malaria es una de las vías actualmente abiertas a la investigación para mejorar costes, facilidad de manipulación, viabilidad y otros aspectos prácticos y así, conseguir crear un método preventivo del paludismo.

Las algas son actualmente una plataforma destacada para la biosíntesis de proteínas recombinantes, especialmente aquellas que no requieren ser glicosiladas pero son demasiado complejas para ser sintetizadas por otros sistemas de expresión. Son, por tanto, de gran interés para la producción de subunidades inmunogénicas como las proteínas de superficie siendo vacunas potenciales contra la malaria.

Para aquellos interesados en este tema, este año se celebra el "9th Annual BioMalPar I EVIMalaR Conference" en el que se tratan temas fundamentales acerca de la malaria, su vector, el parásito y su repercusión en la salud pública [11].

REFERENCIAS

- [1] Web de la organización mundial de la Salud (OMS). http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/WMR_2011_factsheet.pdf
- [2] J. A. Gregory et al., "Algae-Produced Pfs25 Elicits Antibodies That Inhibit Malaria Transmission", *PLoS ONE* vol.7, no.5, e37179, May 2012 doi:10.1471/journal.pone.0037179
- [3] F. Calderón, DM Wilson, FJ Gambo, "Antimalarial drug discovery: recent progress and future directions", *Prog Med Chem*.vol.52 pp. 252:97-151, doi: 10.1016/B978-0-444-62652-3.00003-X.
- [4] G. Majori, "Combined antimalarial therapy using artemisinin", *Parasitologia* vol.46, no. 1-2, pp.85-7, June 2004.
- [5] J.E. Crawford, "No evidence for positive selection at two potential targets for malaria transmission-blocking vaccines in *Anopheles Gambiae*", *S1567-1348(13)00023-3*. Jan 2013, doi: 10.1016/j.meegid.2013.01.006.
- [6] RR. Dinglasan, "Single-dose microparticle delivery of a malaria

Transmission-blocking vaccine elicits a long-lasting functional antibody response" *Curr Mol Med*. 2013 Jan 14.

- [7] C.S. Jones et al., "Heterologous expression of the C-terminal antigenic domain of the malaria vaccine candidate Pfs48/45 in the green algae *Chlamydomonas reinhardtii*", *Applied Microbiology and Biotechnology*, May 2012, doi: 10.1007/s00253-012-4071-7
- [8] Ouédraogo et al., "Naturally acquired immune responses to *Plasmodium falciparum* sexual stage antigens Pfs48/45 and Pfs230 in an area of seasonal transmission", *Infect Immun* vol. 79, pp.4957-4964, 2011 doi:10.1128/IAI.05288-11
- [9] C.S. Jones, S.P. Mayfield, "Steps toward a globally available malaria vaccine: Harnessing the potential of algae for future low cost vaccines", *Bioengineered*. Vol 4, no. 3, May 2012.
- [10] J.H. Kurasawa, "Insect Cell-based expression and characterization of a single-chain variable antibody fragment directed against blood coagulation factor VIII", *Protein Expr Purif*, S1046-5928(12)00346-4. Jan 2013, doi: 10.1016/j.pep.2012.12.008.
- [11] Web de EMBL. <http://www.embl.de/training/events/2013/BMP13-01/index.html>



Ana Galindo García actual estudiante de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide. Estudia 4º curso del grado.

"Hipótesis de la higiene", alergia y enfermedades autoinmunes

M^a Ascensión Villar Fernández

Resumen— Desde que en 1989 Strachan formulara la denominada "hipótesis de la higiene", han sido muchos los estudios llevados a cabo con el fin de establecer una relación entre las infecciones originadas fundamentalmente por una incorrecta higiene y la alergia. El incremento experimentado en las últimas décadas en la incidencia de la alergia y enfermedades autoinmunes en países desarrollados se relacionó inicialmente con un menor contacto con organismos patógenos, debido al acceso a agua potable y otros cambios que han mejorado notablemente nuestras condiciones de vida e higiene. Sin embargo, el conocimiento actual está desvinculando el aumento de estas enfermedades de las prácticas higiénicas, considerándolo una consecuencia de la menor exposición a ciertos organismos comensales que han acompañado a los mamíferos durante el proceso evolutivo y que desempeñan importantes funciones inmunomoduladoras.

Palabras Claves— Alergia, Autoinmunidad, Higiene, Microbiota, Sistema inmune.

1. INTRODUCCIÓN

Desde 1960 se ha venido observando un aumento desmesurado de los casos de alergia y otras enfer-

medades infecciosas crónicas [1]. Tal es así, que se estima que hoy día la incidencia del asma, uno de los principales síntomas de la alergia, en niños y jóvenes, se ha triplicado o cuadruplicado con respecto a hace dos décadas [2]. Por consiguiente, este tipo de enfermedades constituyen ac-

tualmente un grave problema sanitario. El hecho de que este incremento se haya producido en los países más desarrollados llevó, en un primer momento, a recuperar la llamada "hipótesis de la higiene", formulada por Strachan en 1989, que se basaba en la observación de que la alergia al polen era menos frecuente en familias con muchos hijos. Sin embargo, la hipótesis de la higiene se remonta hasta 1870, cuando Blackley se percató de que los aristócratas eran más susceptibles a la alergia al polen que los granjeros, algo inicialmente paradójico si se pensaba que eran estos últimos aquellos más expuestos al polen, al vivir en ambientes rurales [3].

2. HIPÓTESIS DE LA HIGIENE: DESDE SU FORMULACIÓN HASTA LA ACTUALIDAD

No obstante, no fue hasta que Strachan acuñó el término, cuando la hipótesis de la higiene cobró importancia. Lo que Strachan defendía era que la mayor incidencia de infecciones durante la primera infancia, cuando el sistema inmune aún está inmaduro, tenía un efecto protector frente a la alergia o atopía. De esta manera, en una familia con mayor número de hijos, la transmisión de enfermedades y microorganismos entre unos y otros era también mayor, sobre todo si se tenía en cuenta que, en general, dichas familias contaban con recursos económicos limitados y que ello conllevaba que los niños compartieran habitación, aumentando aún más el intercambio de patógenos.

Desde ese momento se inició una extensa investigación encaminada a dilucidar las bases que subyacían bajo la hipótesis de la higiene. Así, algunos estudios mostraron que aquellos niños que acudían a las guarderías a edades tempranas tenían una menor prevalencia de alergia, frente a aquellos que asistían más tarde, asociándose esta observación con el efecto protector del intercambio de infecciones entre los niños [2]. De igual modo, la infección del virus de la hepatitis A, un virus a menudo asociado con una higiene deficiente, mostró tener efecto protector frente a la atopía [3]. Esto parecía confirmar la teoría de que cualquier infección cuya incidencia dependiera de las prácticas de higiene tendría una relación inversa con la alergia.

Desde entonces, los medios de comunicación comenzaron a malinterpretar la hipótesis de Strachan, llegando incluso a afirmar que las infecciones y el contacto con la sociedad eran cruciales en las primeras etapas de la vida para el correcto desarrollo del sistema inmunitario de los niños, lo que trajo como consecuencia cierto descuido en las prácticas de higiene [1]. De igual modo, el enfoque exclusivo a la alergia, hizo que inicialmente no se prestara atención al incremento paralelo de enfermedades autoinmunes, tales como la diabetes de tipo I, la esclerosis múltiple, la artritis juvenil, la enfermedad de Chron o la enfermedad celíaca [1] [3] [4].

Si bien es cierto que se ha llevado a cabo una exhaustiva investigación desde que Strachan formulara su hipótesis, no es menos cierto que los estudios no hacen más

que mostrar datos contradictorios. No cabe duda de que en los países desarrollados las condiciones de vida han mejorado notablemente, teniendo acceso, entre otros, a agua potable y a una mayor higiene no sólo doméstica, sino también en la manipulación de los alimentos. Esto, junto al traslado desde áreas rurales a áreas urbanas (con el menor contacto con los animales que ello conlleva), el uso de vacunas y antibióticos, parece indicar un menor número de infecciones durante la infancia, que podría correlacionar con el aumento de la alergia y enfermedades autoinmunes. No obstante, hasta ahora los datos son incongruentes y únicamente se ha encontrado un efecto protector frente a la alergia de la infección por virus como el de la hepatitis A y el sarampión [1].

De esta manera, lo único cierto es que, si bien las causas del enorme incremento de este tipo de enfermedades siguen siendo desconocidas, dicho aumento no puede explicarse únicamente por factores genéticos, ya que el incremento ha sido de tal magnitud y en tan poco tiempo, que es imposible que se deba a un cambio genético en la población. Es indudable que para el desarrollo de la alergia y otras enfermedades crónicas existe cierta predisposición genética de algunos alelos del complejo de histocompatibilidad, pero los estudios actuales apuntan hacia factores ambientales desencadenantes de la sensibilización alérgica.

3. ALERGIA Y MECANISMOS INMUNOLÓGICOS IMPLICADOS

La alergia se produce cuando el sistema inmunológico responde de manera "agresiva" frente a antígenos que son tolerados normalmente por nuestro organismo [2]. De esta forma, existe un desequilibrio en el funcionamiento de los linfocitos T, que hace que se produzca en exceso la inmunoglobulina E (IgE), desencadenando una reacción anafiláctica, entre cuyos síntomas más característicos destacan el asma, vasodilatación y excesiva secreción mucosa. La IgE se produce gracias a la colaboración de linfocitos T ayudantes (T_H) de tipo 2 que, en presencia de interleuquina 4 (IL-4) y en ausencia de IL-10, condicionan el cambio de cadena necesario para la diferenciación del linfocito B hacia célula plasmática productora de anticuerpos del tipo IgE. Al igual que en todo proceso inmunológico, en la producción de IgE es necesario un correcto balance, que implica la acción coordinada de distintos tipos celulares y citoquinas. Así, mientras los linfocitos T_H1 producen, entre otras, IFN- γ , los T_H2 producen IL-4, IL-5 y IL-13, sobre todo. Sin embargo, muchas otras células son capaces de producir estas citoquinas, por lo que la correcta respuesta del sistema inmune no se basa tanto en el equilibrio entre la función de ambos tipos de linfocitos, sino más bien de un equilibrio entre las citoquinas de tipo 1 y las de tipo 2. Cuando dicho equilibrio se altera puede tener lugar una producción anormalmente alta de IgE y otros mediadores que da lugar a la aparición de síntomas alérgicos [3].

4. CAUSAS DEL AUMENTO DE LA ALERGIA Y LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Las investigaciones recientes asocian el incremento de la alergia bien con un aumento de los factores capaces de estimular la sensibilización alérgica, bien con la pérdida de factores protectores frente a la misma [2]. Lejos queda esto del vínculo entre higiene y atopía establecido por Strachan; cada vez son mayores las evidencias de que no es la higiene en sí la responsable de este tipo de desórdenes inmunológicos, sino el menor contacto con ciertos organismos concretos. Esto ha llevado a reformular la hipótesis de la higiene bajo el nombre de “hipótesis de la privación microbiana”, “hipótesis de los viejos amigos” o “hipótesis de la biodiversidad”, con el objetivo de eliminar la concepción de que una higiene “descuidada” podría tener efectos beneficiosos sobre el desarrollo del sistema inmune [1][3][4][5][6].

Estas teorías defienden que los mamíferos han coevolucionado con ciertos microorganismos no patógenos y comensales, que ayudan a estimular la respuesta inmune dependiente de los linfocitos T_H1 y mantener el equilibrio del sistema inmunológico [1][6]. Estos organismos se encuentran mayoritariamente formando parte de la microbiota intestinal, habiéndose encontrado diferencias en la composición de la misma entre niños alérgicos y no alérgicos. De esta manera, el tratamiento del agua y otras prácticas comunes hoy día, no sólo eliminan las especies patógenas, sino que inevitablemente también eliminan organismos cuya acción inmunomoduladora es esencial. Entre estos organismos se encuentran las micobacterias, lactobacilos, bacterias gramnegativas y helmintos, organismos con los que hemos ido evolucionando, aprendiendo a tolerarlos, y que desempeñan funciones a distintos niveles del sistema inmune [1][4].

Así, las micobacterias desempeñan su efecto protector frente a la alergia estimulando la respuesta dependiente de T_H1 (que suprime la inmunidad mediada por T_H2) y aumentando la población de linfocitos T reguladores, que secretan citoquinas inhibitoras como IL-10 [1][3][5]. Por otra parte, los lactobacilos inducen la producción de IL-12, una citoquina esencial en la inmunidad mediada por T_H1 , de manera que potencian este tipo de respuesta en detrimento de la inmunidad de tipo T_H2 , asegurando el mantenimiento del equilibrio entre ambos tipos de inmunidad [2][4]. De igual modo, ciertas endotoxinas bacterianas estimulan la inmunidad dependiente de T_H1 , y se ha propuesto que podrían jugar un importante papel en la activación de la microflora intestinal [1][3].

Otro de los mecanismos inmunológicos implicados consiste en el reconocimiento de componentes como el lipopolisacárido de la membrana externa de bacterias gramnegativas. El reconocimiento por parte del sistema inmune innato de estos microbios, al igual que el resto de la microflora y bacterias probióticas, se lleva a cabo mediante receptores Toll-like (TLR). Los TLR reconocen productos de bacterias patógenas y comensales, lo que no

sólo estimula la regulación del sistema inmunitario, previniendo respuestas inflamatorias, sino que también mantiene la homeostasis intestinal, permitiendo la simbiosis de ciertos microbios con el hospedador [2][4]. En el caso concreto de los helmintos se ha observado que secretan un antígeno que activa la producción de linfocitos T reguladores, modifican las células dendríticas estimulando a poblaciones específicas de linfocitos y también producen cambios en la microbiota intestinal, aumentando la población de lactobacilos. Por lo tanto, se puede afirmar que estos organismos desempeñan igualmente un papel inmunomodulador esencial [3].

En consecuencia, la hipótesis más plausible a la hora de explicar el incremento desmesurado de la alergia sería la alteración en la composición de la microbiota, por lo que la alergia se concibe como un desorden producido por la privación microbiana durante la infancia. A pesar de que la mayoría de estudios han sido enfocados a la alergia, existe cada vez mayor evidencia de que el aumento de ciertas enfermedades autoinmunes tiene su origen en la misma causa. En este sentido, un estudio con ratones susceptibles a enfermedades autoinmunes (como la diabetes de tipo I), mostró que dichas enfermedades eran paliadas cuando se administraban microorganismos como los helmintos y ciertas bacterias [3][5].

No obstante, a pesar de que de que el menor contacto con ciertos organismos parece ser la principal causa de la polarización del sistema inmune hacia la inmunidad mediada por linfocitos T_H2 , ésta no puede concebirse como la única causa. El incremento de la alergia se debe también a la baja frecuencia de infecciones que estimulan la inmunidad mediada por T_H1 (debido a una mayor higiene, antibióticos y vacunas), tal como apuntaba Strachan, así como a la modificación de los hábitos alimentarios y la exposición a ciertas partículas contaminantes del aire.

El efecto de la dieta sobre el sistema inmunológico es uno de los más estudiados. Hace tiempo que se conoce el efecto protector de la leche materna sobre el lactante, así como el papel materno sobre el desarrollo inmunológico del feto, no sólo porque le ofrece protección pasiva, sino porque le confiere experiencia y memoria inmunológica [4]. Los cambios en la alimentación, caracterizados por un mayor consumo de ácidos grasos y de azúcares, no sólo alteran la composición de la flora intestinal, sino que también conllevan que el sistema inmune no cuente con aquellos nutrientes necesarios para su correcto desarrollo [1]. De esta manera, se ha encontrado una relación de la alergia con la obesidad y un patrón de ácidos grasos poliinsaturados anómalos. Cabe citar que el mayor aporte de ácidos grasos de tipo omega-6 frente a los de tipo omega-3, influye en la mayor producción de la prostaglandina de tipo E2, que tiene un efecto supresor en la producción de IFN- γ , por lo que desequilibra el balance inmunitario hacia la inmunidad mediada por T_H2 , aumentando la susceptibilidad a la alergia. De igual modo, se ha relacionado el estrés con la atopía, puesto que en situaciones de estrés se liberan glucoesteroides y catecolami-

nas que, por diversos mecanismos, evocan la polarización hacia T_H2 [2].

5. CONCLUSIONES

A partir de lo expuesto anteriormente, se puede concluir que la elevada incidencia de la alergia y ciertas enfermedades autoinmunes, debe considerarse desde un punto de vista global, teniendo en cuenta todos los factores involucrados. Sin embargo, cada vez resulta más claro que el factor más relevante en el correcto desarrollo del sistema inmunológico frente a este tipo de enfermedades, es el contacto temprano con especies no patógenas y comensales que estimulan la inmunidad de tipo T_H1 en un momento en el que el sistema inmune está todavía en desarrollo. Es igualmente evidente que el cambio en la calidad de la comida y el agua ha disminuido nuestra exposición a especies comensales, puesto que el tratamiento del agua no sólo elimina las bacterias perjudiciales, sino también otras especies benígnas como las micobacterias, con propiedades inmunomoduladoras.

El conocimiento actual se encamina a encontrar el equilibrio entre una correcta higiene para minimizar las enfermedades infecciosas y la correcta exposición a aquellos microorganismos que colaboran en el desarrollo del sistema inmune. De esta manera, se están investigando nuevas formas de inmunoterapia con el objeto de prevenir la manifestación de estas enfermedades que constituyen ya un problema grave de salud en los países desarrollados. En este aspecto, se están desarrollando vacunas con micobacterias, plásmidos con genes de alérgenos y secuencias inmunoestimuladoras de la inmunidad T_H1 , así como preparados de microorganismos probióticos, no patógenos y algunos de sus antígenos, capaces de estimular y regular la correcta evolución del sistema inmune [1][3][6].

REFERENCIAS

- [1] S.F. Blomfield, R. Stanwell-Smith, R.W.R. Crevel and J. Pickup, "Too clean, or not too clean: the Hygiene Hypothesis and home hygiene", *Clinical and Experimental Allergy*, vol.36, no. 4, pp. 402-425, 2006, doi: 10.1111/j.1365-2222.2006.02463.x
- [2] Ö.E. Strannegard and I.L. Strannegard, "The causes of the increasing prevalence of allergy: is atopy a microbial deprivation disorder?", *Allergy*, vol. 56, no. 2, pp. 91-102, 2001, doi: 10.1034/j.1398-9995.2001.056002091.x
- [3] G.A.W. Rook, "Hygiene Hypothesis and Autoimmune Diseases", *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, vol.42, pp. 5-15, 2012, doi:10.1007/s12016-011-8285-8
- [4] A. Kondrashova, T. Seiskari, J. Ilonen, M. Knip and H. Hyöty, "The 'Hygiene hypothesis' and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland", *APMIS*, 2012, doi:10.1111/apm.12023
- [5] I. Hanski et al., "Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated", *PNAS*, vol. 109, no. 21, pp. 8334-8339, May 2012, doi: 10.1073/pnas.1205624109
- [6] B. Björkstén, "The Hygiene Hypothesis: Do We Still Believe in It?", *Nestlé Nutrition Workshop Series Paediatric Programme*, P. Brandtzaeg, E. Isolauri, S.L. Prescott, eds., Sydney, vol. 64, pp. 4-6, 2008, doi:10.1159/000235780.



Mª Ascensión Villar Fernández es alumna de quinto curso de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide.

A 3D molecular dynamics simulation of a protein-ligand complex. The protein backbone is shown as a grey, semi-transparent surface. The ligand is represented by a ball-and-stick model with cyan, green, and white atoms. The simulation shows the ligand's movement and interactions with the protein's binding site. Two dashed lines indicate hydrogen bonds between the ligand and the protein. The text "MOLEQLA TERMODINÁMICA Y CINÉTICA" is overlaid in the center.

MOLEQLA TERMODINÁMICA Y CINÉTICA

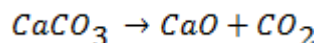
Cal Viva: Obtención, Usos y Termodinámica

David Cabrerizo Granados

La cal viva presenta numerosas utilidades en diferentes sectores de la sociedad, tales como la industria o la protección del medio ambiente. En este artículo conoceremos un poco más sobre este producto, como su proceso de obtención en la Antigüedad y su evolución hasta nuestros días. Además, abordaremos un problema termodinámico para comprender su obtención desde un punto de vista físico-químico.

Palabras Claves— Cal Viva, Óxido de Calcio, Termodinámica, Energía Libre de Gibbs y Constante de equilibrio.

El óxido de calcio, también conocido como cal o cal viva, se obtiene a partir del carbonato de calcio, el cual se presenta en una gran proporción en la caliza; por lo tanto, se utiliza como materia prima para la obtención de cal, a partir de esta reacción:



Esta reacción necesita de una gran cantidad de energía para llevarse a cabo, como podremos comprobar a continuación. Por ello, la obtención de la cal se lleva a cabo en hornos, los cuales soportan altas temperaturas.



Figura 1. Cal Viva.

Antiguamente, se construían hornos rudimentarios en la tierra denominados caleras. Estos hornos presentaban en su parte superior una bóveda de piedra caliza, y en su parte inferior una entrada por la cual alimentar el horno con leña. Tras unos tres días, se obtiene la cal viva.

Sin embargo, con el paso del tiempo, se ha ampliado el abanico de utilización de la cal. Ya no sólo se usa como conglomerante en la construcción o para encalar paredes, sino que actualmente se utiliza en numerosos sectores, como en la producción de jabón, en la siderurgia (principalmente defosforar y desulfurar el acero), en la neutralización de suelos, en procesos de depuración de aguas duras, en los tratamientos de suelos contaminados, como biocida...

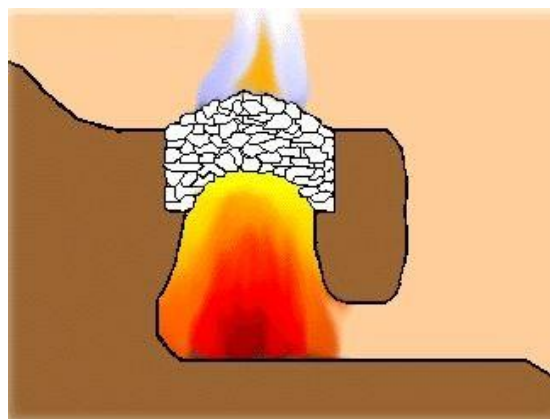
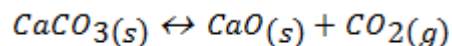


Figura 2. Horno de cal tradicional.

Es por ello, que se requiere de un proceso más rápido y eficiente para conseguir grandes cantidades de cal. Hoy en día se usan hornos regenerativos de corriente paralela, permitiendo precalentar y recuperar los gases de la combustión, es decir, el CO_2 .

Para comprender el proceso de obtención de la cal viva, vamos a realizar un problema termodinámico sobre ello.

Para la reacción:



Y a partir de estos datos:

Compuesto	$\Delta H_f^\circ / \text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	$S^\circ / \text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
$\text{CaCO}_3(\text{s})$	-1206,9	92,9
$\text{CaO}(\text{s})$	-635,1	38,2
$\text{CO}_2(\text{g})$	-393,5	213,7

- ¿Cómo podríamos conocer ΔH° y ΔS° de esta reacción a 298 K?

Al ser la entalpía y la entropía funciones de estado, es decir, su variación no depende del camino seguido sino del estado final y e inicial del sistema en estudio, podemos deducir que:

$$\Delta H^\circ = \sum_{i=1}^N \Delta H^\circ_{\text{Productos}} - \sum_{i=1}^N \Delta H^\circ_{\text{Reactivos}} =$$

$$-635,1 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} - 393,5 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} - \left(-1206,9 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} \right) = 178,3 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

$$\Delta S^\circ = \sum_{i=1}^N \Delta S^\circ_{\text{Productos}} - \sum_{i=1}^N \Delta S^\circ_{\text{Reactivos}} =$$

$$0,2137 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} + 0,0382 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} - \left(-0,0929 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} \right) = 0,159 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}}$$

- Si suponemos ambas magnitudes anteriormente calculadas constantes, ¿Cómo podríamos conocer ΔG° y K_P a 25°C y 1000°C? ¿Serían estas reacciones espontáneas?

Sabemos que la energía libre de Gibbs, a temperatura y presión constante, viene expresada según la siguiente ecuación:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \cdot \Delta S^0$$

Así pues:

- Para 25°C (298 K):

$$\Delta G^\circ = 178,3 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} - 298\text{K} \cdot 0,159 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} = 131 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

- Para 1000°C (1273 K):

$$\Delta G^\circ = 178,3 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} - 1273\text{K} \cdot 0,159 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} = -24,1 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

Sabemos que para que la reacción sea espontánea se debe cumplir que $\Delta G^\circ < 0$; de esta forma, la reacción a 25°C será no espontánea y a 1000°C, sí. Es por esta razón por la que se usan hornos para la obtención de cal.

En una situación de equilibrio, la variación de energía libre de la reacción es 0:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K = 0$$

De tal forma que despejando:

$$K = e^{-\Delta G^\circ / RT}$$

Así pues:

- Para 25°C (298 K):

$$K = e^{-131 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} / 8,31 \cdot 10^{-3} \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} \cdot 298\text{K}} = 1,907 \cdot 10^{-23}$$

- Para 1000°C (1273 K):

$$K = e^{24,1 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} / 8,31 \cdot 10^{-3} \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} \cdot 1273\text{K}} = 9,765$$

Hemos visto que al aumentar la temperatura, el valor de la constante de equilibrio aumenta, lo que conlleva un aumento de formación de producto, es decir de cal y de anhídrido carbónico. Este concepto refuerza la idea de usar hornos de altas temperaturas para la obtención industrial de cal.

- Si llevamos a cabo esta reacción en un recipiente de paredes rígidas y a vacío a 1300 K, el recipiente revienta. ¿Cómo podemos conocer la presión que es capaz de resistir el recipiente?

En primer lugar, calcularemos el valor de la energía libre de Gibbs en el momento de la explosión:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S = 178,3 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}} - 1300\text{K} \cdot 0,159 \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} = -28,4 \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}$$

A continuación, conoceremos el valor de la constante de equilibrio en dicho momento:

$$K = e^{\frac{-(-28,4) \frac{\text{KJ}}{\text{mol}}}{8,31 \cdot 10^{-3} \frac{\text{KJ}}{\text{K}\cdot\text{mol}} \cdot 1300\text{K}}} = 13,86$$

La constante de equilibrio depende de las actividades de los compuestos de la reacción:

$$K = \frac{a_{\text{CaO}} \cdot a_{\text{CO}_2}}{a_{\text{CaCO}_3}}$$

Las actividades pueden expresarse según las concentraciones

molares; pero también según las presiones:

$$a = \gamma \cdot \frac{P}{P^{ref}}$$

De manera que, suponiendo condiciones de idealidad, en las que el factor de actividad (γ) sea aproximadamente 1 y la presión de referencia sea 1 atm, y recordando que el CO_2 es el único gas de la reacción, tenemos que:

$$P_{\text{CO}_2} = 13,86 \text{ atm resiste el recipiente}$$

CONCLUSIONES

Con este ejercicio hemos podido comprender la necesidad de someter a la piedra caliza a altas temperaturas para la obtención de cal y, por ello, la utilización de hornos de altas temperaturas para su obtención a nivel industrial.

REFERENCIAS

- [1] Web. <http://www.caleras.com/>
 - [2] Web. http://www.atelier-st-andre.net/es/paginas/tecnica/tecnica_fresco/produccion_cal.html
 - [3] Web. <http://www.textoscientificos.com/quimica/cales>
 - [4] Web. http://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_oxide
- La imagen 1 procede de <http://www.revalsl.es/fotos%20apagado/DSC00809.JPG>
 - La imagen 2 procede de http://www.atelier-st-andre.net/es/paginas/tecnica/tecnica_fresco/produccion_cal.html



David Cabrerizo Granados, estudiante de 2º Biotecnología de la Universidad Pablo de Olavide.

Con el grumo en la masa: Bizcocho y memoria atómica

Alicia Casanueva Vozmediano

Resumen—En el presente artículo se trata de dar una explicación de porqué se forman grumos en la masa de los bizcochos al cambiar el sentido de mezcla. Este extraño fenómeno, a primera vista, parece ir en contra del segundo principio de la termodinámica ya que sistemas aparentemente desordenados (de máxima entropía), que han evolucionado desde estados ordenados, pueden volver a su estado ordenado original. Este fenómeno es un ejemplo de la paradoja de Loschmidt, también conocida como paradoja de la irreversibilidad, que ha sido objeto de controversia en la comunidad científica y la cual, aún hoy día, se sigue intentando explicar.

Palabras Claves— memoria, atómica, segundo principio termodinámica, Loschmidt, paradoja, reversibilidad



1. INTRODUCCIÓN

“MMuévelo siempre para el mismo lado” me decía mi madre cuando me ponía a ayudarla batiendo la masa del bizcocho. Cuando le preguntaba el porqué, contestaba siempre que si no se formaban grumos, afirmación cuya veracidad pude comprobar al lograr escapar del ojo vigilante de mi madre. Sin embargo, al preguntarle porqué se formaban los grumos no supo qué contestar ya que, obviamente, era más la experiencia empírica de tantos años batiendo bizcochos la que acertaba la respuesta que un conocimiento científico de las razones por las que, misteriosamente, las partículas parecían recorrer el camino al revés como, si de alguna manera, pudieran recordarse el camino que habían tomado.

Durante tiempo, me estuve preguntando el porqué de tan curioso fenómeno que también pude observar en otras situaciones. Si bien es cierto que en los cuerpos elásticos las partículas recuperan su posición inicial, este fenómeno de la elasticidad bien poco tenía que ver con mis bizcochos. Además, este fenómeno parecía ir en contra del segundo principio de la termodinámica que establece que todos los sistemas tienden a evolucionar hacia una entropía máxima, es decir, a aumentar su desorden y no a ordenarse como las partículas del bizcocho que se reordenaban en grumos al invertir el sentido de giro.

2. LA PARADOJA DE LOSCHMIDT

No fue hasta leer una anécdota ocurrida en 1872, conocida como la paradoja de la reversibilidad o paradoja de Loschmidt [1], cuando pude, al fin, empezar a vislumbrar el porqué de los grumos en la masa al cambiar el sentido de mezcla.

Uno de los fundadores de la termodinámica, Ludwig Boltzmann, afirmó en una conferencia que “la entropía de

los sistemas aislados aumenta irreversiblemente a medida que transcurre el tiempo”. Al escuchar esto, el físico Joseph Loschmidt, antiguo profesor y gran amigo de Boltzmann, expresó su desacuerdo argumentando que las leyes que gobiernan el movimiento de todas las partículas son simétricas con respecto del tiempo: en consecuencia, todo sistema que haya evolucionado del orden al caos podría recuperar de nuevo su orden original, simplemente invirtiendo el momento de cada partícula, sin que la energía cinética total del sistema resultara afectada. Ante este argumento, Boltzmann señaló a Loschmidt con el dedo y respondió “Es usted el que invierte los momentos”.

Al margen de la respuesta de Boltzmann, la afirmación de Loschmidt sí parecía explicar el extraño fenómeno de los grumos en mis bizcochos.

3. LA MEMORIA ATÓMICA

Aunque tanto el significado como las implicaciones del segundo principio de la termodinámica aún son objeto de investigación y controversia [2], existen métodos, otros que mis bizcochos, para llevar a cabo la inversión temporal de Loschmidt. Así, un conjunto de partículas que evolucione de un estado altamente ordenado a uno de mayor entropía puede ser retornado a este estado invirtiendo los movimientos o cualquier otro grado de libertad de las partículas que lo constituyen. De hecho, un conjunto de átomos tiene una cierta memoria de su condición original. Para que un sistema dado muestre esta clase de memoria atómica, hay que prepararlo con algún tipo de orden, frecuentemente oculto en un estado desordenado, como la harina de los bizcochos.

Se puede ilustrar el efecto de memoria por medios mecánicos [3]. Supongamos un líquido viscoso en el volumen comprendido entre dos cilindros de plástico concéntricos y el externo está en reposo mientras el interno gira alrededor de su propio eje (figura 1). Si se inyecta una tinta coloreada en el estado inicial se dibuja un hilo colo-

reado que representa la alineación inicial de las partículas. Al girar el cilindro interno, la tinta se dispersa por el líquido viscoso hasta llegar a un punto en el que parece que la tinta está completamente desordenada, es decir, está en su entropía máxima y que el proceso de mezcla es completo e irreversible. Sin embargo, en realidad, el líquido está en un estado de orden oculto, o entropía cons-

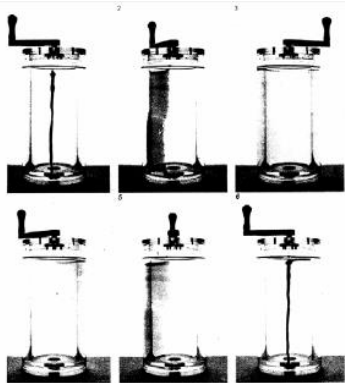


Fig. 1. Orden oculto. Girando el cilindro, el hilo de tinta se desdibuja hasta desaparecer en el líquido viscoso (arriba). Al girar en sentido contrario, el hilo de tinta reaparece (abajo).

tante: la inversión de la rotación del cilindro interno puede invertir el proceso de mezcla y tras producir un número igual de rotaciones en sentido inverso reaparece el hilo de tinta.

4. CONCLUSIÓN:

Así pues, finalmente el sorprendente fenómeno de la reagrupación de las partículas de harina al cambiar el sentido de mezcla tenía una explicación: al mezclar la harina de los bizcochos, esta se encuentra en un estado ordenado oculto (entropía constante) y al invertir el sen-

tido de giro, se invierte el momento de cada partícula recuperándose el orden original, de ahí, la formación de los grumos.

Existen otros métodos para generar memoria atómica. De hecho también se ha observado en técnicas de radiación pulsada de radiofrecuencia. Estos fenómenos de memoria atómica, que probablemente le hubiesen encantado a Loschmidt, pueden ser muy útiles ya que permite a los físicos una mejor comprensión de las estructuras e interacciones de los materiales a nivel atómico.

REFERENCIAS

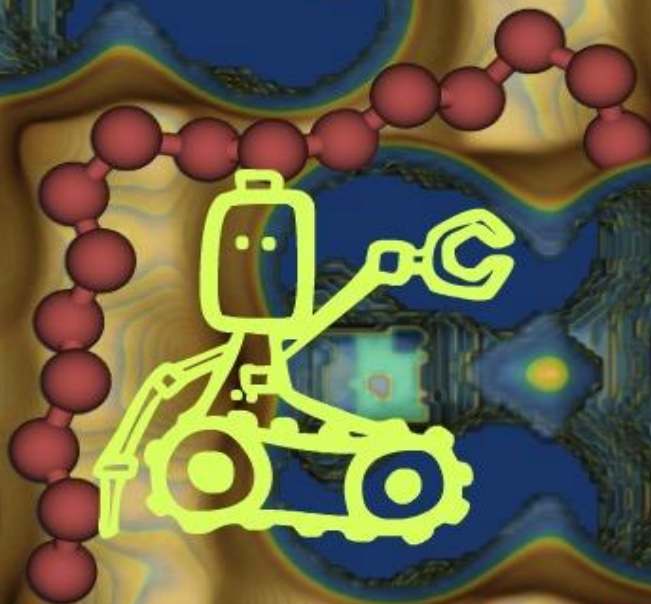
- [5] Web de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa <http://www.izt.uam.mx/>
- [6] L. Maccone. "Quantum Solution to the Arrow-of-Time Dilemma," *Physical Review Letters*, 103, p 080401-1-080401-1, Aug. 2009, doi: 10.1103/PhysRevLett.103.080401.
- [7] R.G. Brewer, E.L. Hahn. "Atomic memory," *Scientific American*, vol. 251, p 50-57, Dec. 1984, doi: 10.1038/scientificamerican1284-50



Alicia Casanueva Vozmediano recibió el título de Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universidad de Sevilla en 2001, y de Master Universitario en Análisis y tecnologías del Agua en 2003 por la Universidad de Sevilla. Actualmente estudia un Master Oficial de Biotecnología AmlIndustrial y Alimentaria en la Universidad Pablo de Olavide.



CURIOSIDADES



Melatonina exógena, ¿la panacea contra el jet lag?

M^a Lourdes Campaña Díaz

Resumen—Este artículo presenta los efectos beneficiosos de la síntesis de la hormona melatonina, sus acciones fisiológicas y cuestiona la administración de la melatonina exógena frente a los trastornos producidos por el jet lag, tal y como se afirma en varias campañas publicitarias.

Palabras Claves— Jet lag, Melatonina, Ritmos Biológicos, Ritmo circadiano, Viajes Transoceánicos.

1. INTRODUCCIÓN

El término “jet lag” es definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, como [1]: “*los síntomas ocasionados por la alteración del reloj corporal interno y los ritmos circadianos que controlan dicho reloj, aproximadamente, cada 24 horas*”. Esta alteración se produce generalmente al cruzar distintas zonas horarias (de este a oeste y/o viceversa), en los viajes transoceánicos.

Muchos son los efectos perjudiciales del temido por muchos, jet lag; entre ellos: indigestión y trastornos de la función intestinal, malestar general, reducción de las facultades físicas y mentales, somnolencia durante el día y dificultad para conciliar el sueño durante la noche (Fig.1). El grado de afección varía en función de muchos factores, entre ellos, el de la predisposición genética y la capacidad individual de adaptarse a una nueva zona horaria. Éstos desaparecen gradualmente conforme el organismo se adapta a la nueva situación.



Figura 1. Los trastornos ocasionados por el jet lag.

Los síntomas del jet lag no se pueden prevenir, pero sí minimizar, ejemplo de ello pueden ser: estar lo más

descansados posibles antes de viajar, tomar comidas ligeras antes de volar, evitar el consumo de cafeína y alcohol entre las cuatro y las seis horas previas al viaje, tomar comprimidos de melatonina [2],...

Pero, ¿por qué son tan importantes todas estas consideraciones antes de volar?, ¿realmente se puede evitar el jet lag?, ¿por qué en algunas campañas publicitarias se recomienda tomar melatonina exógena en pastillas?, ¿cuál es su efecto?

Es lógico que os hagáis estas preguntas, yo también me las haría si no hubiese estudiado la importancia de la melatonina en dos asignaturas de la carrera: Fisiología Animal y Biología del Comportamiento. Y es que aprendí que la importancia de la melatonina y su influencia en el jet lag radican en su relación con los ritmos biológicos que imperan en nuestra vida.

2. RITMOS BIOLÓGICOS

Debido a la rotación y traslación de la tierra, se establece una periodicidad, un ritmo, de las condiciones de luz y temperatura [3] que afectan a los patrones de migración, reproducción estacional, respuestas hormonales,... y que no son más que adaptaciones de los seres vivos al medio en el que viven; esto es lo que determina los ritmos biológicos.

Se denomina “ritmos biológicos” a la recurrencia de cualquier fenómeno dentro de un sistema biológico a intervalos más o menos regulares [4]. Estos ritmos biológicos están determinados genéticamente, son ubicuos (omnipresentes) e independientes de la temperatura y pueden ser modulados por determinados

factores ambientales (luz/oscuridad), que se conocen como Zeitgeber (sincronizador) [5].

Existen diferentes clasificaciones para los ritmos biológicos, ya sea en función de su frecuencia, de los fenómenos geofísicos que los determinan, así como de su duración. Según este último criterio, los ritmos biológicos pueden ser ultradianos (si tienen una duración superior a 24 horas), infradianos (si su duración en cambio es inferior a 24 horas) y circadianos; a los que el presente artículo hace alusión, ya que son los de una duración cercana a las 24 horas, y coinciden con la alternancia noche/día [4], éste es el ciclo que sigue la síntesis de la hormona melatonina en mamíferos [6].

3. MELATONINA

La melatonina es una hormona sintetizada por la glándula pineal a partir del triptófano (aminoácido esencial que debe ser aportado por la dieta) y la enzima N-acetiltransferasa. Se ha descrito que esta hormona tiene una antigüedad de más de 2000 años, y se ha comprobado que existe en todos los animales y plantas estudiadas [7], hechos que denotan la relevancia de esta MoleQla.

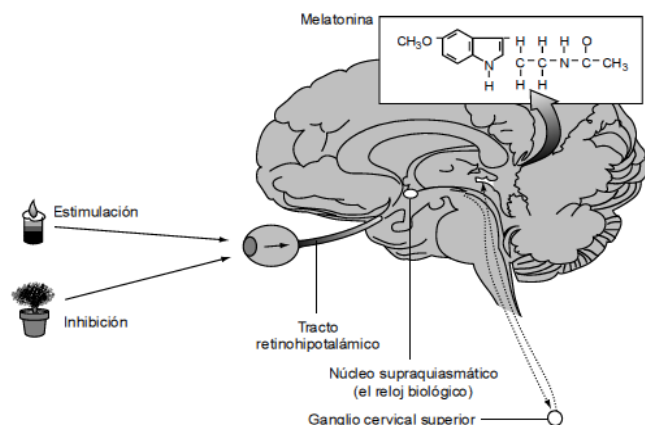


Figura 2. Vías nerviosas de síntesis de la melatonina [8].

La síntesis de la melatonina, esta curiosa MoleQla, sigue las órdenes marcadas por un reloj endógeno u oscilador primario, que en mamíferos es el núcleo supraquiasmático (Fig. 2); los estímulos van desde ahí, hasta el ganglio cervical superior, y de éste al oscilador

secundario, o glándula pineal. La información acerca del estado en el que se encuentra el organismo también produce modulaciones, y son las procedentes de: corteza cerebral, telencéfalo basal, tálamo, hipotálamo, órganos circunventriculares y tallo cerebral [9].

A la melatonina también se le suele llamar “la hormona de la oscuridad”, y su proceso de síntesis es complejo. Simplificándolo, podríamos decir que la glándula pineal transforma en melatonina la información lumínica del fotoperiodo recibida por los pinealocitos de la retina y por el núcleo supraquiasmático. Esta síntesis se estimula en condiciones de oscuridad (Fig. 3), produciéndose un pico de máxima secreción a mitad de la noche, entre las dos y las cuatro de la madrugada. Tras su síntesis, la melatonina no se almacena, sino que se libera en sangre [10] y es captada por sus receptores que se localizan en varios lugares, donde ejerce sus acciones fisiológicas:

- Regulación de los ritmos circadianos, como ya se ha comentado.
- Regulación de los ritmos circanuales: muy importantes en los animales de reproducción estacional y que relaciona el pico de máxima secreción de melatonina nocturno, con las hormonas involucradas en la reproducción, el tamaño de los órganos sexuales y con el ciclo estral (o reproductivo)[11].
- Regulación de la sensibilidad a la luz en la retina, de la función vascular y de la secreción hormonal [12].
- Importante acción antioxidante y protectora frente a los radicales libres [13].

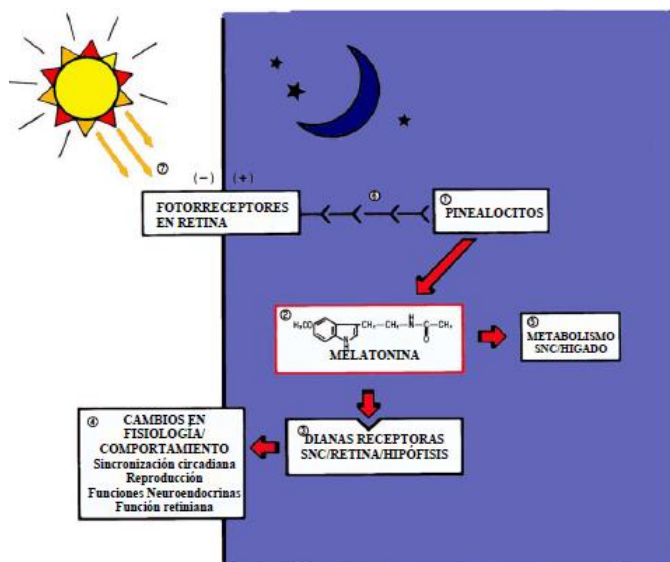


Figura 3. Esquema que simplifica los componentes del sistema de regulación de la melatonina en mamíferos, así como los efectos fisiológicos que produce. Modificado de [14].

4. MELATONINA COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO

La administración de la melatonina como medicamento no está aprobada por la Food & Drug Administration (FDA), ya que es difícil evaluar su eficacia y los métodos de fabricación no están normalizados; por lo que se distribuye como complemento alimenticio, y en Internet se pueden encontrar muchos productos.

En España se comercializan dos productos, uno de la farmacéutica NORMON, dentro de su línea de “Autocuidado de la Salud” Normovital®, que lo presenta como una solución indicada para disminuir el tiempo necesario para conciliar el sueño en caso de jet lag y para las personas cuyo horario diario de trabajo cambia [15], y el otro de la marca Aquilea, con las mismas aplicaciones [16].



Figura 4. Normovital Melatonina, complemento alimenticio de 1,75 mg de melatonina y de Aquilea Melatonina®, de 1,95 mg de melatonina y vitamina B6.

No obstante, se están llevando a cabo muchos estudios sobre las diferentes posibilidades terapéuticas de la melatonina, ejemplo de ello es el trabajo del profesor Antonio Carrillo Vico de la Universidad de Sevilla (en adelante, US) sobre los efectos terapéuticos del tratamiento con melatonina en casos de esclerosis múltiple; o los estudios preventivos, que realizan junto con el Instituto de la Grasa y el Grupo de investigación de Ciencia y Tecnología de Sistemas Dispersos de la US sobre una bebida bioactiva con propiedades inmunomoduladoras y antioxidantes.

5. CONCLUSIONES

Los efectos de la melatonina como regulador circadiano son los responsables del ajuste del reloj endógeno que todos tenemos, y que sufre una alteración conocida como jet lag al realizar viajes transoceánicos.

Debido a que el mecanismo de síntesis de la melatonina es muy complejo y obedece a varios osciladores, además de las condiciones propias de cada individuo, los efectos de este trastorno varían en cada individuo. Por todo ello, la OMS prefiere hacer hincapié en los buenos hábitos antes, durante y después del viaje para combatir el jet lag; mejor que recomendar la administración de melatonina exógena como medicamento, y la reserva a casos extremos y bajo prescripción médica.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco mis conocimientos a todos aquellos profesores y profesoras que con sus sabias doctrinas han conseguido suscitar reflexión, pragmatismo, aplicabilidad, y consejo. A todos los que hacen de su trabajo una pasión en el día a día, y que han despertado en mí una vocación que creía dormida.

REFERENCIAS

- [1] Web del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/salud/viajesInter/home.htm>
- [2] Arendt J, Aldhouse M, Marks V. (1986). Alleviation of jet lag by melatonina: Preliminary results of controlled double blind trial.
- [3] Márquez de Prado García, Blanca. (2012). Ritmos circadianos y neurotransmisores: Estudios en la corteza prefrontal de la rata.
- [4] Delgado-García, J. M. (1992). Ritmos biológicos. *En J.AF Tresguerres (Comp.), Fisiología Humana, Interamericana-McGraw-Hill, Madrid, , 1166-1180.*
- [5] Mora, F., & Sanguinetti, A. M. (1994). *Diccionario de neurociencias/Dictionario of neuroscience* Alianza Editorial SA.

- [6] Murcia García, J., Muñoz Hoyos, A., Molina Carballo, A., Fernández García, J., Narbona López, E., & Uberos Fernández, J. (2002). Pubertad y melatonina. *An Pediatr (Barc)*, 57(02), 121-126.
- [7] Reiter R.J.(1989). The pineal and its indole products. Basic aspects and clinical applications. Cohen MP, Foa PP, editors. *The brain as an endocrine organ. Endocrinology and metabolism. Vol. 3.* New York: Springer-Verlag.
- [8] Brzezinski A. (1997). Melatonin in human.
- [9] Moore, R. J. y Leak, R.K.(2001). Suprachiasmatic nucleus. *Handbook of behavioural neurobiology: circadian clocks.* Takahashi, J.S., Turek, F.W. y Moore, R.J. (eds.) pp.141-179. Kluwer Academics/Plenum Publisher, New York.
- [10] Reiter, R.J. (1993). The melatonin rhythm: both clock and calendar. *Experientia* 49, 654-664.
- [11] Moore, R. Y.(1999). Circadian timing. En: *Fundamental Neuroscience.* Zigmund, M.J., Bloom, F.E., Landis, S.C., Roberts, J.L. y Squire, L.R. (eds.), pp. 1189-1206. Academic Press, San Diego.
- [12] Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.* 78, 687-721.
- [13] Poeggeler, B., Reiter, R.J., Tan, D.-X., Chen, L.D. y Manchester, L.C. (1993). Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a Hypothesis. *J. Pineal Res.* 14, 151-168.
- [14] Krause, D. N., & Dubocovich, M. L. (1990). Regulatory sites in the melatonin system of mammals. *Trends in Neurosciences*, 13(11), 464-470.
- [15] Página web de NORMON, <http://normon.es/ficha.cfm?id=987>
- [16] Página web de Aquilea: <http://www.aquilea.com/es/producto/aquilea-melatonina/74>



Mª Lourdes Campaña Díaz (Marchena, Sevilla), Licenciada en Ciencias Ambientales por la Universidad Pablo de Olavide en 2010. Máster de Profesorado en ESO, Bachillerato, F.P. y Enseñanza de Idiomas, también por la UPO en 2011. Experiencia laboral en empresas públicas y privadas. Actualmente cursando Máster en Biotecnología Ambiental, Industrial y Alimentaria por la UPO.

Oxitocina y la conducta social

Carlos Salas Sierra

Resumen— Hasta hace relativamente poco se creía que las funciones de la oxitocina se limitaban a la eyección de leche en la lactancia y a las contracciones uterinas en el parto. Sin embargo, el creciente interés en la neuropsicología ha puesto a esta hormona en el punto de mira, ya que numerosos estudios han demostrado el efecto de la oxitocina en cualidades como la fidelidad, la confianza y el afecto.

Palabras Claves— Hormona, neurotransmisor, comportamiento, trastornos psicológicos, medicamento.



1. ESTRUCTURA Y SÍNTESIS

La oxitocina es un nonapéptido, es decir, un péptido formado por nueve aminoácidos. Su secuencia es cisteína - tirosina - isoleucina - glutamina - asparagina - cisteína - prolina - leucina - glicina.

En el residuo de glicina se produce una modificación postraduccional que consiste en la conversión del grupo carboxilo terminal a una amida. Por otra parte, los grupos tioles de las cisteínas se oxidan para dar lugar a un puente disulfuro. La cistina resultante es, por tanto, responsable de la ciclación de los seis primeros aminoácidos.

En la Figura 1 podemos ver dicho ciclo y el dímero de cisteínas (en amarillo).

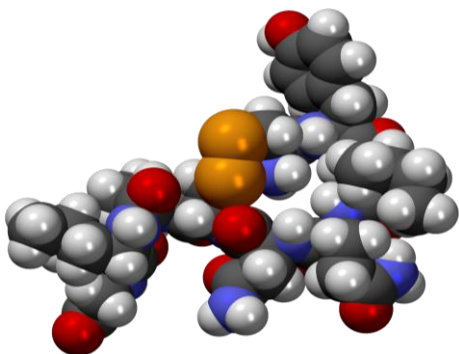


Fig. 1. Estructura tridimensional de la oxitocina.

La hormona se sintetiza en las neuronas magnocelulares del hipotálamo, concretamente en la neurohipófisis. Estas células producen una proteína precursora que, tras su proteólisis, se escindirá en oxitocina y neurofisina I: su proteína transportadora [1], [2].

2. FUNCIONES BIOLÓGICAS

2.1. Efectos en la conducta social

En este apartado se describirá brevemente la relación de la oxitocina con la fidelidad, la depresión y la ansiedad.

En un experimento tutelado por René Hurlemann, se administró oxitocina por vía nasal a un grupo de hombres heterosexuales y un placebo al grupo de control. A los treinta minutos de recibir la dosis, los hombres se sometían individualmente a una serie de pruebas. En una de ellas, una mujer atractiva se desplazaba alrededor de los voluntarios. En otra, era el hombre el que podía moverse libremente, acercándose a la mujer cuanto quisiera. Los participantes debían describir qué distancia le parecía adecuada y a partir de qué distancia se sentían incómodos.

El resultado del experimento fue sorprendente. Como la oxitocina aumenta la confianza, era de esperar que los varones a los que se les suministró soportaran distancias más cortas. Sin embargo, los participantes que recibieron oxitocina se mantenían a mayor distancia que los que recibieron el placebo. Además, la oxitocina no tuvo ningún efecto sobre los hombres solteros, quienes se acercaron a la mujer tanto como los del grupo de control, poniendo de manifiesto que existe una relación entre esta sustancia y la fidelidad. El papel de este neurotransmisor en la fidelidad ya se había comprobado en ratones, que se volvían monógamos tras su administración [3], [4].

Otro estudio, en la Universidad de Lieja, demostró que bajas concentraciones de oxitocina nos hacían más propensos a sufrir ansiedad y depresión. Los sujetos debían responder a dos series de preguntas para evaluar cuantitativamente su estado anímico. Estos son el cuestionario de la Escala de depresión de Hamilton (HDRS) y el cuestionario del Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo.

La Figura 2 muestra los resultados del experimento. Vemos que cuanto más bajos son los niveles de oxitocina en sangre más depresión presentan los individuos en la escala HDRS. Lo mismo ocurría con el otro cuestionario: la ansiedad y la oxitocina eran inversamente proporcionales.

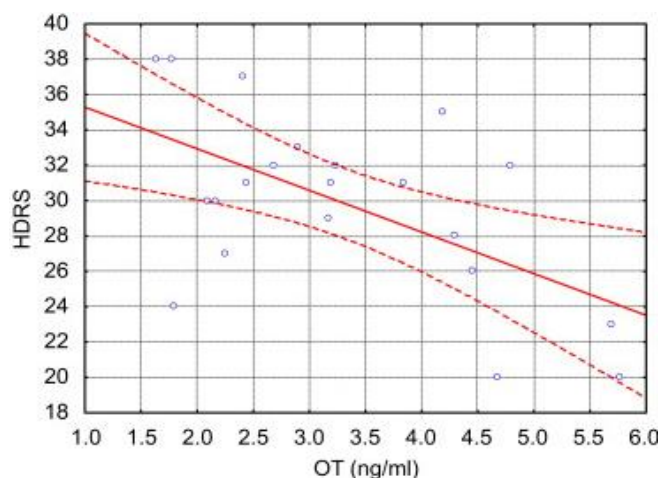


Fig. 2. Correlación entre los niveles de oxitocina y la depresión.

La oxitocina también regula los lazos maternos, la excitación sexual y la generosidad (entre otros). Además, esta regulación es muy compleja, habiendo un dimorfismo sexual y social [5][6].

2.2. Efectos en el organismo

Aunque este artículo se centre en cómo afecta la oxitocina a nuestro comportamiento, también hay que destacar su papel en diversos procesos biológicos. Algunos de ellos son tan importantes como el desarrollo embrionario del corazón y la homeostasis del calcio intracelular. La memoria, el sueño y la osificación también dependen de la acción hormonal o de la neurotransmisión de la oxitocina y así se han descrito hasta 39 ejemplos más [7].

3. APLICACIÓN FARMACOLÓGICA Y REPERCUSIÓN

Industrialmente, la producción de oxitocina sintética comenzó en 1958 a manos de la empresa Leciva-Pharmaceuticals, y en la actualidad es producida en numerosas compañías farmacéuticas. El medicamento con oxitocina más conocido es la pitocina o pitocin. Este se administra por vía intravenosa a las mujeres embarazadas para inducir el parto. Es una práctica común en caso de retrasos y si se dan dificultades en el nacimiento. [8], [9].

Los nuevos medicamentos que están saliendo al mercado son de especial interés. En los ensayos clínicos, la oxitocina ha dado muy buenos resultados en el tratamiento de trastornos psicológicos. La depresión, la esquizofrenia y el autismo son algunas de las enfermedades que ya se pueden tratar con este neuropsicofármaco natural. De esta forma, el psiquiatra puede prescribir oxitocina para aumentar los efectos de la terapia psicosocial [10], [11], [12].

Sin embargo, otros medicamentos basados en la oxitocina se pueden comprar por internet, sin receta médica. Esto es posible porque no puede considerarse ilegal la obtención de un producto que se produce naturalmente en el cuerpo. Esta libertad para la venta de oxitocina le permite a las empresas presentarla al público como un producto milagroso. La venden como la cura del estrés, la solución a la infidelidad y con eslóganes como "Oxitocina, confianza en una botella". En la Figura 2 vemos un anuncio de una página web que vende exclusivamente oxitocina en spray.



Fig. 3. Publicidad de un spray de oxitocina.

Si bien es cierto que estos productos tienen las propiedades que dicen tener, venderlo masivamente es

muy imprudente; el efecto psicotrópico de la oxitocina es ya muy conocido y están empezando a surgir “fiestas”, donde la frase “pásame la oxitocina” puede escucharse más de una vez. [13], [14].

En cualquier caso, las ventajas de la oxitocina hacen de este neurotransmisor un fármaco imprescindible en muchos medicamentos.

4. CONCLUSIONES

Aunque frente a la sociedad se hable de la oxitocina de forma esperanzadora, todavía queda mucho camino por recorrer. Por una parte, muchos medicamentos no salen al mercado porque no pasan todas las fases previas a la comercialización. Por otra, algunos productos se venden sin ningún tipo de control, muchos de los cuales son usados con fines ilícitos. Es obvio que las autoridades pertinentes deberían regular con mayor eficacia la venta de productos basados en la oxitocina.

Sin embargo, también debemos destacar que nos acercamos cada vez más al entendimiento de la conducta humana. La gran cantidad de estudios realizados nos permite descifrar el funcionamiento de las emociones a nivel molecular, una ardua tarea que nos ha llevado mucho tiempo.

REFERENCIAS

- [1] Web de la Facultad de Ciencias de la Pontificia universidad Javeriana.
www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/oxitovasopresina.htm
- [2] Artículos de Wikipedia. <http://es.wikipedia.org/wiki/Oxitocina>
<http://es.wikipedia.org/wiki/Neurofisisina>
- [3] René Hurlemann, “Oxytocin Modulates Social Distance between Males and Females”.
<http://www.jneurosci.org/content/32/46/16074>
- [4] Artículo del ABC sobre la oxitocina.
<http://www.abc.es/20121114/ciencia/abci-hormona-fidelidad-masculina-201211131928.html>

- [5] G. Scantamburlo, “Plasma oxytocin levels and anxiety in patients with major depression”.
www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453007000297
- [6] P.J. Stanton, “Oxytocin increases generosity in humans”
- [7] Base de datos UniProtKB.
<http://www.uniprot.org/uniprot/P01178>
- [8] Web del IOCB TTO (Institute of Organic Chemistry and Biochemistry Technology Transfer Office Limited Liability Company). <http://www.iocb-tto.cz/content/view/iocb-and-peptidic-drugs>
- [9] Web sobre el embarazo y el parto.
http://www.nacersano.org/centro/9255_10469.asp
- [10] Eric Hollander, “Oxytocin Increases Retention of Social Cognition in Autism”.
www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322306007293
- [11] Cort A. Pedersen, “Intranasal oxytocin reduces psychotic symptoms and improves Theory of Mind and social perception in schizophrenia”.
www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920996411004257
- [12] Uvnäs-Moberg K, “Oxytocin as a possible mediator of SSRI-induced antidepressant effects”.
<http://link.springer.com/article/10.1007/s002130050867>
- [13] Web de la tienda online OxytocinStore.
<http://www.oxytocinstore.com/>
- [14] Web multitemática sobre actualidad.
<http://pijamasurf.com/2009/07/fiestas-de-oxitocina-tomando-la-hormona-del-amor-en-una-pastilla/>



Carlos Salas Sierra estudia el grado de Biotecnología en la Universidad Pablo de Olavide, finalizando su primer curso, 2012-2013.

Yo no tengo la sangre dulce

Ana del Rocío Medina Bernal

Resumen—Los mosquitos tienen receptores olfativos que les permiten detectar determinados compuestos químicos. Las personas que sintetizan mayor cantidad de estos compuestos son más propensas a sufrir sus picaduras, demitiendo la creencia popular sobre la importancia del dulzor sanguíneo.

Palabras Claves— DEET, Dióxido de carbono, Gen Orco, Mosquito, Olfato.

1. INTRODUCCIÓN

Los mosquitos (figura 1) son insectos de la familia de los dípteros que habitan en zonas húmedas. Estos insectos, sobre todo las hembras, succionan sangre con la que alimentarse y poder realizar la puesta de huevos. Sin embargo, al tiempo que realizan la succión, introducen en los organismos el veneno característico que provoca las denominadas “picaduras de mosquito”.



Fig. 1. Mosquito transmisor de la malaria

Es creencia popular que los mosquitos sólo pican a humanos y, en concreto, a los que tienen la sangre más dulce, pero esto no es así. Ni los mosquitos succionan sólo la sangre de nuestra especie, ni se guían por su “sentido del gusto”.

2. LA QUÍMICA DE LAS PICADURAS

Los mosquitos pican a multitud de mamíferos, sin embargo, existen algunas especies como la de *Aedes aegypti* que son algo más selectivas y prefieren nuestra sangre.

Estos insectos se guían por el calor corporal y las emisiones de dióxido de carbono, fundamentalmente. Es por ello, que las personas adultas de complexión más fuerte son las más susceptibles de sufrir picaduras.

Además, los mosquitos se guían por determinados compuestos químicos que les indican dónde se localiza

un potencial hospedador. Entre estos compuestos destacan en ácido láctico y el colesterol [1].

3. EL GEN ORCO

Sin embargo, nuevos estudios [2] demuestran que los mosquitos utilizan su capacidad olfativa para detectar a sus presas.

El estudio basa sus resultados en un experimento realizado sobre mosquitos de la especie *A. aegypti*. Se usaron nucleótidos, que inhiben la expresión del denominado “gen orco”. Este gen es el responsable de que estos dípteros sean capaces de seleccionar determinados humanos y no otros. Los resultados mostraron que mosquitos mutantes (desprovistos del gen orco), eran incapaces de percibir los compuestos químicos por los que sienten predilección o repulsión. Así, los mosquitos se acercaron indistintamente a personas que se encontraban rociadas con DEET (principal compuesto químico de los repelentes de mosquitos).

Sin embargo, los mosquitos que se posaron sobre el cuerpo, detectaron de alguna forma la presencia del DEET (se cree que por la consistencia del compuesto) y se alejaron rápidamente.

4. CÓMO REPELERLOS: DEET

La mayoría de los repelentes contra mosquitos contienen un compuesto químico conocido como DEET (N,N-Dietil-3-metilbenzamida).

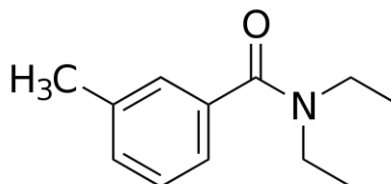


Fig. 2. N,N-Dietil-3-metilbenzamida

El DEET (figura 2) es un compuesto líquido de color

amarillento que se sintetiza a partir de ácido 3-metilbenzoico y dietilamina (figura 3) [3].

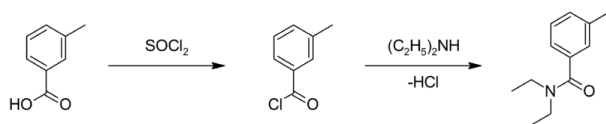


Fig. 3. Síntesis del DEET

No está claro el mecanismo de acción del DEET, pero los estudios muestran que interfiere en los receptores de los insectos, y hace que éstos sean incapaces de percibir el dióxido de carbono o el ácido láctico [4].

En cuanto a su toxicidad con respecto a otros animales, los estudios demuestran que los restos de DEET encontrados en aguas residuales afectan considerablemente a peces y otros insectos acuáticos. Sin embargo, existen hongos y bacterias que son capaces de degradar el DEET a compuestos secundarios menos tóxicos.

5. CONCLUSIONES

Los mosquitos necesitan su olfato para detectar a sus potenciales presas. Sin embargo, su olfato no tendría sentido si no tuvieran ningún rastro que seguir, se orientan por los compuestos químicos que emanan del cuerpo de sus futuros huéspedes. Del mismo modo podemos usar sus sentidos para evitar sus ataques mediante la utilización de repelentes como el DEET.

REFERENCIAS

- [1] Matthew DeGennaro, Carolyn S.McBride, Laura Seeholzer, Takao Nakagawa, Emily J. Dennis, Chloe Goldman, Nijole Jasinskiene, Anthony A. James and Leslie B. Vosshall, "Orco mutant mosquitoes lose strong preference for human and are not repelled by volatile DEET," *Nature*, May 2013, doi:10.1038/nature12206.
- [2] Web de Muy Interesante. <http://www.muyinteresante.es/>
- [3] Web de Wikipedia. <http://en.wikipedia.org>
- [4] Web del National Pesticide Information Center (NPIC). <http://npic.orst.edu/index.es.html>



Ana del Rocío Medina Bernal Realizó bachillerato en su ciudad natal, Jerez de la Frontera. Actualmente estudia biotecnología en la universidad Pablo de Olavide. Cursa 1º de este grado.