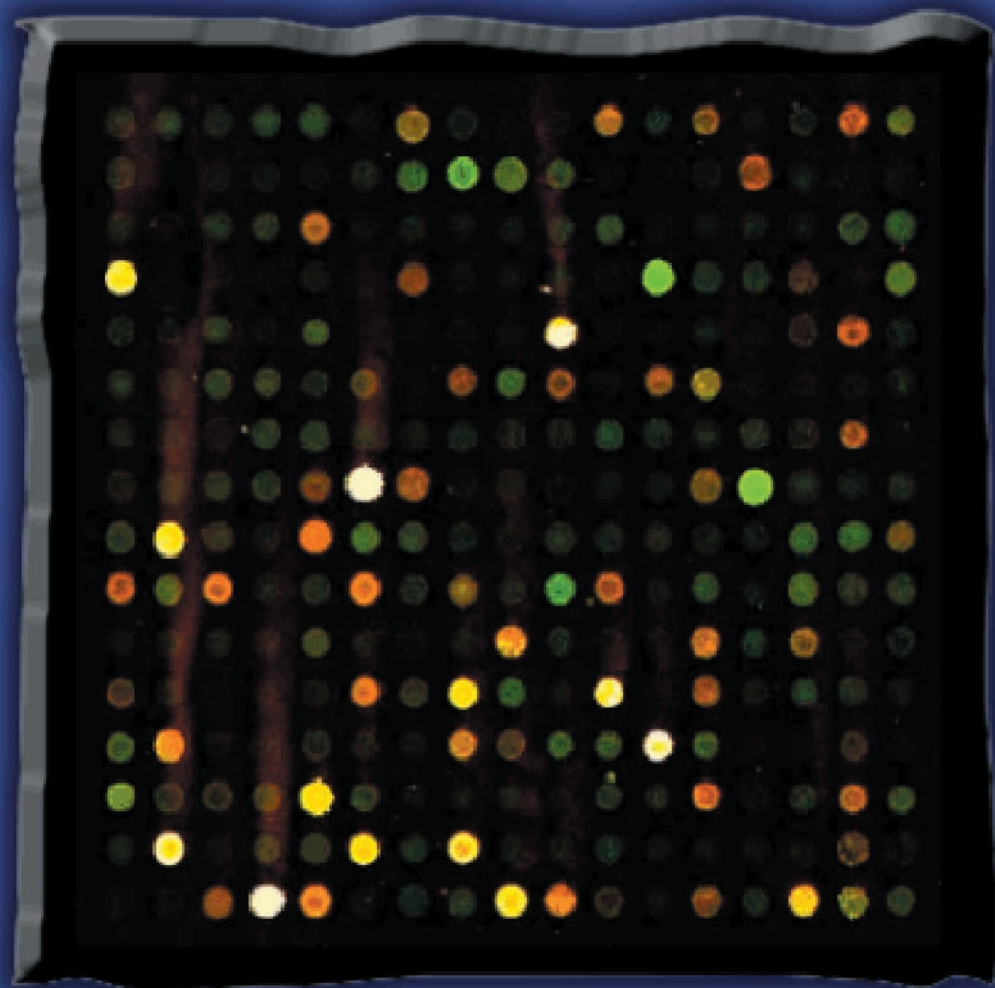


Encuentros en la Biología



Director:
Salvador Guirado

Editor jefe:
M. Gonzalo Claros

Comité editorial:
Ramón Muñoz-Chápuli,
Antonio de Vicente,
José Carlos Dávila,
Francisco Cánovas,
Francisca Sánchez

Diseño de la portada:
M. Gonzalo Claros

Correspondencia a:
Encuentros en la Biología,
M. Gonzalo Claros (Editor jefe),
Depto. Biología Molecular y Biquímica,
Facultad de Ciencias,
29071 Málaga
Tfno.: 952 13 7284
email: claros@uma.es

Dirección de internet:
<http://www.encuentros.uma.es/>

Editado con la financiación del
Vicerrectorado de Investigación y
Doctorado de la Universidad de Málaga.

D.L.:MA-1.133/94

ÍNDICE

3 *Helicobacter pylori*: del estómago al Nóbel.

Dr. Jesús Padial Azuaga.

4 Las bacterias que «están devorando» al titanic

Juan Carlos Codina Escobar.

6 ¿Metabolismo vírico?

Guillermo Domínguez Huertas

Portada: Análisis de la expresión de los genes de pino que intervienen en la síntesis de madera mediante una micromatriz (microarray).
Foto: F. R. Cantón, D. P. Villalobos y S. Díaz-Moreno, Dep. Biología Molecular y Bioquímica, UMA.

Instrucciones para los autores

La revista Encuentros en la Biología es una publicación mensual durante el curso académico español que pretende difundir, de forma amena y accesible, las últimas novedades científicas que puedan interesar tanto a estudiantes como a profesores de todas las áreas de la biología. Además de la versión impresa, la revista también se puede consultar en línea en <http://www.encuentros.uma.es/>. **Cualquier persona puede publicar en ella** siempre que cumpla las siguientes normas a la hora de elaborar sus originales:

1. Todos los manuscritos deberán ser inéditos o contarán con la autorización expresa del organismo que posea los derechos de reproducción. Además, deben tener alguna relación con el objetivo de la revista —los que simplemente reflejen opiniones se rechazarán directamente—.
2. El formato del documento puede ser RTF, SXW/ODT (OpenOffice) o DOC (Microsoft Word). Debido a las restricciones de espacio, la extensión de los mismos no debe superar las 1600 palabras; en caso contrario, el editor se reserva el derecho de dividirlo en varias partes que aparecerán en números distintos.
3. Cada contribución constará de un título, autor o autores, y su filiación (situación académica; institución u organismo de afiliación; dirección postal completa; correo electrónico; teléfono). Para diferenciar la afiliación de diferentes autores utilice símbolos (*, #, ¶, †, ‡) después del nombre de cada autor.
4. Los nombres de las proteínas se escribirán en mayúsculas y redondilla (ABC o Abc). Los de los genes y las especies aparecerán en cursiva (ABC, *Homo sapiens*). También se pondrán en cursiva aquellos términos que se citen en un idioma que no sea el castellano.
5. Las tablas, figuras, dibujos y demás elementos gráficos serán en blanco y negro puros, y deberán ir colocados en su posición, dentro del archivo. Las figuras, las fórmulas y las tablas deberán enviarse en formato GIF o JPG, a una resolución mínima de 150 dpi, máxima de 300 dpi y al menos 8 bits de profundidad.
6. Cuando sean necesarias, las referencias bibliográficas se citarán entre paréntesis dentro del propio texto indicando el apellido del primer autor (se escribirá «y cols» en caso de ser más), el año, la revista o libro donde aparece, el volumen y las páginas.
7. Envío de contribuciones: el original se enviará por correo electrónico al editor jefe (claros@uma.es) o a cualquier otro miembro del comité editorial que consideren más afín al contenido de su contribución. Aunque lo desaconsejamos, también se pueden enviar por correo ordinario (Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, España) acompañados de un CD. No se devolverá ningún original a los autores.
8. Los trabajos los leerán al menos un editor y/o un revisor externo para asesorar sobre la conveniencia de publicar el trabajo; también se podrán sugerir al autor las mejoras formales o de contenido que harían el artículo más aprovechable. En menos de 30 días se enviará la notificación al autor por correo electrónico.

HELICOBACTER PYLORI: DEL ESTÓMAGO AL NÓBEL.

Dr. Jesús Padial Azuaga.

Dr. en Biología. Colegiado. Analista Clínico. Director del laboratorio Padial Análisis. Almuñécar (Granada).

Hay un dicho popular, más o menos cierto, el cual dice que «por el estómago se conquista al hombre». En esta ocasión se podría decir que por el estómago se «conquista» un Nóbel, como ha ocurrido en este año 2005. Los médicos australianos Barry J. Marshall y J. Robin Warren han sido galardonados con el premio Nóbel de Medicina y Fisiología por descubrir la bacteria *Helicobacter pylori* y el papel que desempeña dicha bacteria en el desarrollo de la inflamación del estómago (gastritis) y de la úlcera péptica.

Los estudios de estos autores se remontan al año 1982, cuando realizaron el cultivo con éxito de *Helicobacter pylori* a partir de tejido obtenido de pacientes con gastritis. Estos autores observaron que unas bacterias helicoidales colonizaban la parte inferior del estómago (el antro pilórico) en el 50% de los pacientes y que la inflamación estaba siempre asociada a la presencia de *Helicobacter pylori*. En base a estos resultados, propusieron que *H. pylori* estaba implicada en la patogenia de esta enfermedad (Warren, J. R. y Marshall J. B. 1983. *Lancet*: 1273-1275).

Se han aislado diferentes especies de *Helicobacter* en el tubo digestivo de mamíferos y aves. Las helicobacterias gástricas se sitúan en la mucosa gástrica adyacente al epitelio y raramente alcanzan el torrente sanguíneo (a diferencia de las helicobacterias intestinales). En concreto, *H. pylori* es una bacteria gram negativa con forma de espiral que coloniza principalmente el antro pilórico del estómago. Esta bacteria se puede encontrar ocasionalmente en la saliva y las heces. Las principales vías de transmisión descritas para *H. pylori* son la oral-oral y la fecal-oral. Los análisis epidemiológicos familiares sugieren que el contagio directo de padres a hijos es el principal modo de transmisión. Una vez que se establece la infección, ésta persiste durante toda la vida, aunque en raras ocasiones se haya descrito su eliminación natural. Asimismo, se han documentado transmisiones de algunas especies de *Helicobacter* de mamíferos infectados (perros, gatos) a personas. Se estima que aproximadamente el 50% de la población mundial está infectada por *H. pylori*. Esta prevalencia serológica varía desde un 20% en los adultos jóvenes de países desarrollados, a más del 50% (a veces el 90%) en los llamados países en desarrollo. En España, el 50% de la población presenta la infección, aunque sólo el 15-25% de ella sufre una úlcera péptica.

Desde el punto de vista clínico, las personas infectadas por *H. pylori* pueden ser asintomáticas o pueden padecer, favorecida por diversos factores, una gastritis aguda con dolor abdominal, náuseas y vómitos a las dos semanas de la infección, tras lo cual se puede establecer una infección caracterizada por una gastritis crónica activa.

Muchos pacientes tienen síntomas recurrentes sin presentar úlceras gástricas y algunos suelen padecer la inflamación del duodeno, llegando a provocar úlceras duodenales. En otros, la infección permanente les lleva a desarrollar gastritis crónicas atróficas, un estadio previo de las úlceras gástricas y de los adenocarcinomas gástricos. La gastritis crónica se caracteriza por una infiltración inflamatoria crónica, formada por leucocitos y células plasmáticas, con presencia de folículos linfoides y con un grado variable de actividad.

Dada la prevalencia de la infección de dicha bacteria, es lógico pensar en los grandes esfuerzos que la comunidad científica ha realizado para establecer unos protocolos para el diagnóstico y tratamiento de dicha infección. En la actualidad, y para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en el laboratorio, disponemos de una serie de técnicas que nos permiten diagnosticar con diferentes grados de sensibilidad y especificidad la existencia de dicha infección. Existen pruebas de tipo invasivo (detección directa del microorganismo) y pruebas de tipo no invasivo. Es principalmente el estado clínico del paciente lo que debe determinar la utilización de uno u otro tipo de prueba. Para los pacientes con síntomas leves o pacientes con dispepsia no ulcerosa que no posean lo que se denominan factores de riesgo se deberá optar por las pruebas no invasivas, mientras que para los pacientes con factores de riesgo tales como edad avanzada, importante pérdida de peso o sangrado gastrointestinal se debería optar por las pruebas de tipo invasivo.

Entre las pruebas de tipo invasivo se encuentran:

1. Endoscopia: se considera la prueba de referencia para determinar las lesiones de la mucosa gástrica producidas por *H. pylori*. Consiste en la introducción de un tubo, que contiene una fibra óptica flexible, por la boca hasta el estómago. Es una prueba de elevado rendimiento diagnóstico para determinar la existencia o no de una úlcera péptica o de un cáncer gástrico (precisión del 96%). A la vez que se observa directamente el grado de inflamación de la mucosa, se suele obtener tejido para la realización de una biopsia del mismo. También es posible realizar una prueba de la actividad de la ureasa de la bacteria en el tejido, un cultivo o un estudio histológico. No obstante, es una prueba de coste elevado y no siempre es accesible. Asimismo, a menudo los pacientes no la toleran bien (precisa de la administración de un anestésico o relajante muscular) y, en raras ocasiones, puede presentar complicaciones.

2. Histología: al tejido obtenido de la biopsia se le pueden realizar estudios histológicos (tinción de Gram, hematoxilina-eosina, giemsa) e inmunohistoquímicos dirigidos a la identificación de *H. pylori*.

3. Cultivo: de la biopsia también se pueden realizar cultivos microbiológicos en distintos medios selectivos. La incubación se realiza en condiciones microaerófilas. El cultivo tiene entre un 70 y un 90% de sensibilidad y se utiliza siempre que se necesite estudiar la sensibilidad antibiótica de la bacteria.

Entre las pruebas de tipo no invasivo tenemos las siguientes:

1. Prueba de la [¹³C]-urea o prueba del aliento: *H. pylori* posee una enzima, la ureasa, que le permite colonizar y persistir en la cavidad gástrica más eficazmente. El fundamento de la prueba consiste en detectar la actividad de dicha enzima. Se realiza mediante la recogida del aliento basal y del aliento tras 20 minutos de la administración oral de [¹³C]-urea. El aumento de la [¹³C]-urea en el aliento se expresa como una diferencia absoluta por el cociente [¹³C]-urea/[¹²C]-urea. La medición del ¹³C se realiza bien por espectrometría de masas del cociente de los isótopos o por espectrometría de infrarrojos. Esta prueba, realizada correctamente, tiene una sensibilidad del 98,2% y una especificidad del 97,9% cuando se compara con un patrón de referencia en base a métodos invasivos. La prueba del aliento con [¹³C]-urea se considera el método de elección para confirmar la erradicación de la infección en los pacientes con úlcera duodenal ya que, una vez que *H. pylori* ha desaparecido, cesa completamente la producción de ureasa.

2. Método serológico mediante la detección de inmunoglobulinas (IgG, IgM) en suero del paciente por enzimoanálisis (ELISA): es una técnica útil como primera aproximación al diagnóstico, con unas relativamente grandes sensibilidad y especificidad (aprox. el 95%). La principal limitación de esta técnica consiste en que no distingue entre una infección activa y una infección que ya haya sido erradicada, por lo que no es útil para determinar la erradicación de la enfermedad. Se debe a la propia naturaleza de las inmunoglobulinas, pues los títulos disminuyen lentamente en el suero del paciente, por lo que no pueden utilizarse para determinar la curación. Esta técnica de enzimoanálisis se realiza en forma de test (positivo/negativo) o mediante varias técnicas cuantitativas más específicas como, por ejemplo, la basada en la inmunofluorescencia.

3. Detección de antígenos en las heces: diferentes estudios ponen de manifiesto la correlación de esta técnica con la existencia de una infección activa por *H. pylori*. Se trata de una técnica que utiliza anticuerpos policlonales anti-*H. pylori* para su detección. Al ser la técnica de más reciente aparición, todavía se está evaluando su especificidad y sensibilidad.

El tratamiento de la infección por *H. pylori* está indicado en aquellos pacientes con enfermedad ulcerosa péptica, bien sea duodenal activa o cicatrizada, gástrica o con complicaciones, gastritis atrófica o la resección después de un cáncer gástrico. El tratamiento combina la acción de dos o tres antibióticos con la de un compuesto anti-ulceroso, el cual permite modificar el pH del medio para que tenga también actividad antibiótica. Entre los antibióticos que han mostrado una utilidad clínica se encuentran la amoxicilina, la tetraciclina, el metronidazol y la claritromicina. Entre los compuestos anti-ulcerosos se han utilizado con preferencia inhibidores de la bomba de protones (IBP) como el omeprazol, el lansoprazol o el esomeprazol. Antes de iniciar una pauta de tratamiento, que suele durar entre siete y diez días, se debe considerar el porcentaje de resistencia a los antibióticos del área geográfica del paciente. El tratamiento inicial que se recomienda es un IBP con dos antibióticos. Como en todos los tratamientos, pueden no resultar satisfactorios según las características propias del paciente y los factores de las propias cepas de *H. pylori*. Si el tratamiento falla, se debe evitar repetir dos veces la misma pauta y se recomienda la realización de estudios de resistencia antes de iniciar un nuevo tratamiento.

Los estudios sobre *H. pylori* realizados por Marshall y Warren han permitido aumentar el conocimiento que se tenía de la relación entre infección crónica, inflamación y cáncer. Muchas otras enfermedades, como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la artritis reumatoide o la aterosclerosis, son causa o consecuencia de procesos inflamatorios crónicos. El descubrimiento de la bacteria *H. pylori* causante de la gastritis y la úlcera péptica ha impulsado con más fuerza la idea que ya se tenía de que las bacterias pueden ser la causa de muchas otras condiciones inflamatorias crónicas.

LAS BACTERIAS QUE «ESTÁN DEVORANDO» EL TITANIC

Juan Carlos Codina Escobar

Profesor de Educación Secundaria en el I.E.S. Los Montes de Colmenar (Málaga).

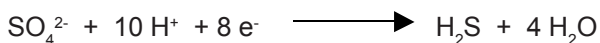
Quizás la historia del Titanic y del iceberg que lo envió a pique en la madrugada del 15 de abril de 1912 se haya convertido ya en una leyenda de los mares. El Titanic ha pervivido mucho más tiempo que el bloque de hielo que provocó su hundimiento. No obstante, el pecio de tan majestuosa nave no durará para siempre. Las predicciones que se hacían, en el sentido de una lenta

corrosión a gran profundidad, han resultado inciertas. De hecho, cuando los restos del Titanic se hallaron en 1985 a cerca de 4000 m de profundidad, ya presentaban en algunas zonas una especie de carámbanos alargados oxidados de color rojizo y, en otras, manchas negruzcas de sulfuro de hierro. Se confirmaba así una corrosión extensiva de los restos de naufragios a gran

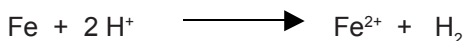
profundidad, que se producía no sólo como resultado de reacciones electroquímicas sino también de bacterias, fundamentalmente anaerobias.

Los análisis realizados con las muestras obtenidas de los restos del Titanic revelaban la participación importante de las bacterias sulfatorreductoras. Se han encontrado dos tipos de bacterias asociadas a los «carámbanos» colgantes que semejan estalactitas oxidadas; bacterias que, a menudo, reciben el nombre de bacterias «comedoras» de hierro. En la parte interna se localizan las bacterias sulfatorreductoras anaerobias, que no precisan de oxígeno, mientras que en la parte externa se encuentran las bacterias aerobias. Las reacciones químicas llevadas a cabo por la combinación de ambas incrementa la tasa de corrosión del hierro.

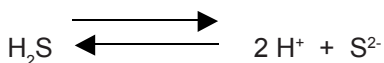
Las bacterias sulfatorreductoras producen sulfuro de hidrógeno a partir de los iones sulfato que abundan en el agua de mar, y de los iones hidrógeno y electrones necesarios para reducir el azufre desde el estado de oxidación +6 al -2, tal como se resume en la siguiente reacción:



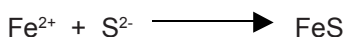
La solubilidad del dióxido de carbono se incrementa con la profundidad, lo que convierte a las aguas oceánicas profundas en ligeramente ácidas. Esta acidez favorece la presencia de más iones hidrógeno que inciden, a su vez, de forma favorable en la corrosión de metales para producir iones metálicos según la siguiente reacción, para el caso del hierro:



El hidrógeno es empleado por las bacterias sulfatorreductoras para producir más iones hidrógeno que, posteriormente, se emplearán en la reducción del sulfato. A su vez, el sulfuro de hidrógeno producido por la acción de estas bacterias es un ácido débil que libera hidrogeniones e iones sulfuro:



Estos últimos pueden combinarse con los iones Fe^{2+} , produciendo su precipitación en forma de sulfuro de hierro:



No obstante, las zonas metálicas que se encontraban próximas a objetos de madera, en el Titanic, mostraban una menor corrosión inicial, debido al hecho de que, al parecer, la hidrólisis de la celulosa libera oxígeno que estimula el crecimiento de bacterias aerobias. Sin embargo, los residuos producidos por ellas proporcionan sustancias nutritivas para las bacterias sulfatorreductoras

anaerobias, lo que incrementa, a posteriori, la corrosión del metal cercano a la madera. Estas bacterias, «devoradoras de metal», se convierten así en limpiadoras del agua de mar.

Estas y otras bacterias constituyen la base de la biorremediación, una nueva tecnología para encarar los problemas medioambientales. En un principio, se emplearon en ella microorganismos aislados de lugares contaminados, microorganismos de colección o derivados de cultivos enriquecidos, sin caracterizar, con la intención de acelerar los procesos microbiológicos de degradación de sustancias recalcitrantes en suelos, aguas u otros sistemas complejos. Sin embargo, se observó una falta de efectividad de estos microorganismos debido, al menos, a la concurrencia de tres factores [M.T. Madigan y cols. En: *Biología de los microorganismos*. 10ª edición. Pearson Prentice May, Madrid]:

- La depredación que sufren estos microorganismos por parte de otros microorganismos autóctonos, como es el caso de los protozoos del suelo.
- La incapacidad de los mismos para contactar con los compuestos a degradar.
- Su desventaja manifiesta en la supervivencia y competencia con los microorganismos indígenas.

Para mejorar la capacidad de supervivencia de estos microorganismos en ambientes naturales se les hace crecer en medios de cultivo pobres en nutrientes. Aunque tales estrategias han mejorado la supervivencia y la función microbiana, no han llegado a solucionar el problema. Como contrapartida, se han desarrollado estrategias de atenuación natural que preconizan el empleo de comunidades microbianas naturales en el tratamiento de contaminantes ambientales. Asimismo, se pueden conseguir resultados más satisfactorios mediante la adición de los microorganismos conjuntamente con un microhábitat que les proporcione protección física así como el suministro de nutrientes. A ellos habría que añadir como factores críticos el contacto entre los microorganismos y el sustrato, y la ausencia de compuestos tóxicos para los mismos.

Se ha observado también, a menudo, que la adición de materia orgánica fácilmente metabolizable, como puede ser el caso de la glucosa, incrementa la biodegradación de los compuestos recalcitrantes que no se usan generalmente como fuentes de carbono y energía. El proceso ha recibido el nombre de «cometabolismo» y puede conseguirse también mediante el empleo de plantas. En este caso se habla de fitorremediación y la planta suministra los nutrientes que permiten que los procesos de cometabolismo se den en la rizosfera. La fitorremediación también incluye procesos de degradación, inmovilización y volatilización de los contaminantes.

Los microorganismos como las bacterias sulfatorreductoras representan, desde el punto de vista humano, dos caras de una misma moneda. De igual manera que son empleados para llevar a cabo procesos

de biorremediación, son los causantes de los procesos de biodeterioro. Así, las bacterias que son capaces de emplear hierro en sus procesos metabólicos ocasionan la corrosión de conducciones de gas y petróleo. Algunas variedades de bacterias sulfatorreductoras producen un biofilm en la zona interna de dichas conducciones, ocasionando tanto su estrechamiento como su corrosión con las consiguientes pérdidas económicas para las industrias petroleras. La formación de biofilms es una respuesta adaptativa a la necesidad de mejorar la eficiencia en la obtención de sulfatos. Cuando un ambiente es pobre en nutrientes y está sometido a un movimiento de flujo, es una buena idea adherirse a una superficie y de esa forma tener acceso a una gran cantidad de agua con sus correspondientes nutrientes. [Wysong, 2004. En: www.accessexcellence.com/WN/SU/bactercorrode.html].

Una vez que se ha llevado a cabo la secuenciación del genoma de *Desulfovibrio vulgaris*, una bacteria

sulfatorreductora, se ha encontrado un grupo específico de proteínas que le permiten usar hierro como donador de electrones para sus procesos metabólicos. Estas proteínas pertenecen a un grupo especial de citocromos c que facilitan la transferencia de electrones desde el metal al sulfato, produciendo la reducción química de los metales. La identificación de estas proteínas es importante desde el punto de vista de sus posibles aplicaciones prácticas, tanto en la búsqueda de formas de evitar el biodeterioro como por su uso para limpiar ambientes contaminados con metales tóxicos mediante técnicas de biorremediación.

Un ecologista considerará que las bacterias que «están devorando» el Titanic constituyen aliados inestimables en el proceso de biorremediación del fondo oceánico. Sin embargo, un apasionado de la leyenda del Titanic las verá como responsables del biodeterioro de sus restos. En cualquier caso, ellas serán las responsables de su completa eliminación.

¿METABOLISMO VÍRICO?

Guillermo Domínguez Huertas

Estudiante de Biología de la Universidad de Málaga

Según el Premio Nobel Peter Medawar, un virus no es más que un pedazo de ácido nucleico rodeado de malas noticias. Los virus no son células, son endoparásitos estrictos y, además, desde el punto de vista genético no tienen metabolismo. Dependen fisiológicamente de la célula viva. Por ello, muchos no los consideran seres vivos. Famosa es la polémica sobre si los virus están vivos, que se ha convertido en el debate sobre el sexo de los ángeles de la biología moderna ¿Y qué importa que los virus estén vivos o no? Lo que está claro es que dependen de la vida y la modifican. Durante una infección, el virus no construye «su propia célula dentro de una célula», sino que funciona como una pieza añadida de material genético que altera toda la maquinaria. El virus no se limita a replicar su genoma y producir viriones. Son necesarias ciertas interacciones virus-célula para que el ciclo de multiplicación vírica y la habilidad para causar la enfermedad tengan éxito. La alteración de las funciones normales de la célula infectada (citopatogenia) en el plano molecular es interesante para comprender, por ejemplo, cómo el huésped induce una respuesta de defensa y cómo el virus despliega la respectiva evasión. En otras palabras, nos interesa diferenciar qué cosa es vírica y qué otra celular. ¿Y por qué? La quimioterapia antivírica se ha quedado muy atrás respecto a la desenfrenada industria de los antibióticos. Los antibacterianos van dirigidos contra enzimas y estructuras exclusivas de los procariontes y esenciales para su viabilidad. Las bacterias sí son células. Incluso las rickettsias y las clamidias, endoparásitos de

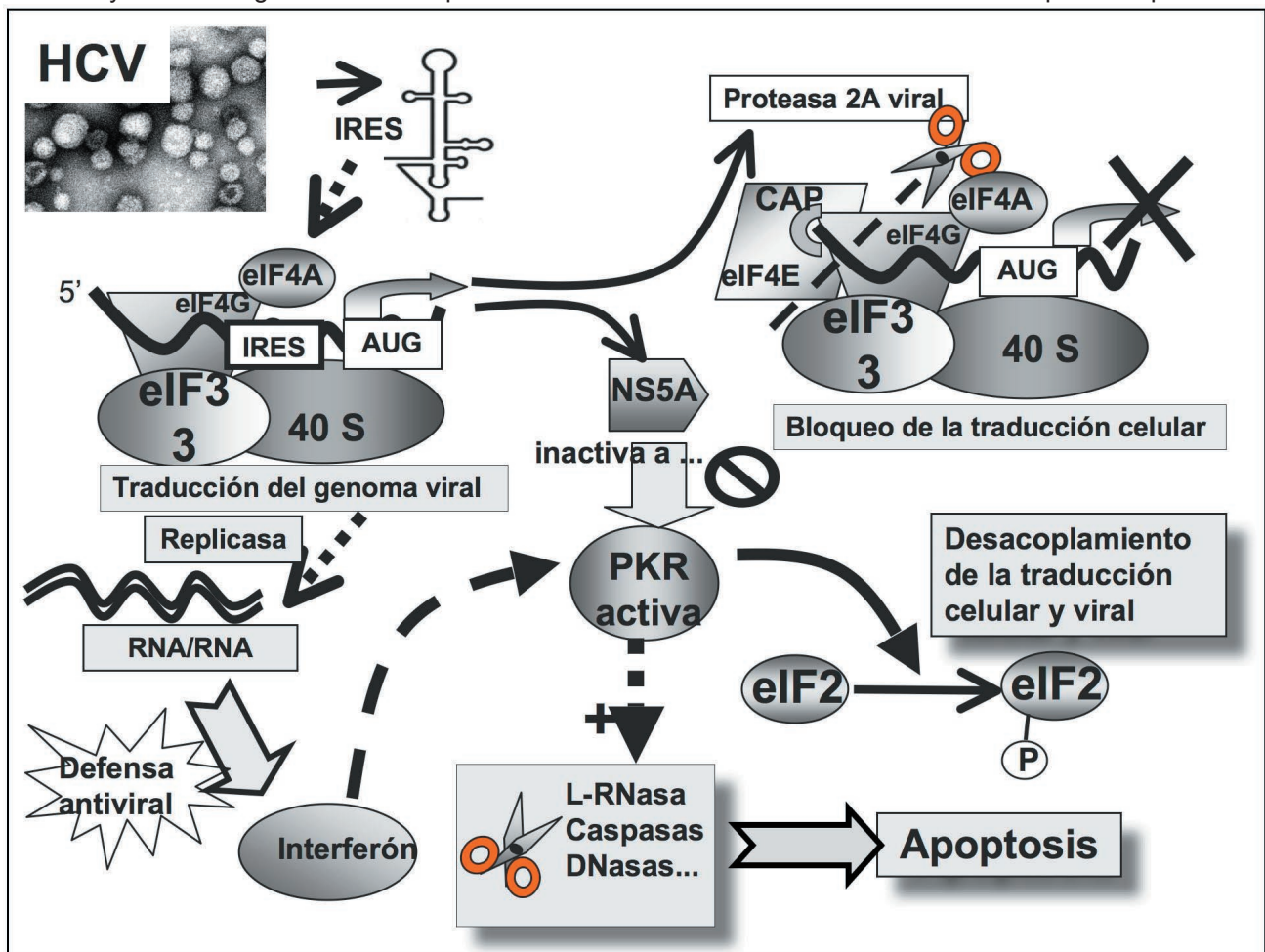
células eucariotas, presentan todas las enzimas para la replicación. Aún cuando catalizan reacciones similares, las enzimas microbianas difieren lo suficiente de sus homólogos eucariotas como para diseñar antibióticos específicos contra ellas. El que los virus dependan de la célula hospedadora en varios aspectos de su ciclo de crecimiento ha complicado tremendamente el desarrollo de los fármacos inhibidores de la multiplicación del virus y no de las células. Pero desde hace veinte años, existen en el mercado varios fármacos antivíricos seguros, y estamos a punto de alcanzar un nivel que equivaldría al comienzo de la era de los antibióticos a mediados del siglo XX. Inicialmente, estos fármacos se descubrían por azar, frecuentemente durante la búsqueda de fármacos antitumorales. Ahora que se han determinado algunas de las vías moleculares que aprovechan los virus, el diseño racional de fármacos permite apuntar contra las proteínas víricas específicas.

La primera prueba de que los virus pueden dirigir alteraciones en ciertas facetas del metabolismo se remonta al descubrimiento de ciertos fagos T pares modificaban de la síntesis de la citosina mediante un cambio de vía que termina en la 5-hidroxi-metil-citosina para sintetizar un DNA discriminado por DNAsas víricas [Wyatt GR et al., *Nature*. 170:1072-3 (1952)]. Los estudios posteriores de los cultivos celulares inoculados se han centrado principalmente en el efecto citopatógeno distintivo: la caída pronunciada de la síntesis de RNA y proteínas celulares [la famosa «desconexión del hospedador» (*host shutoff*)]. La

causa de este fenómeno radica en una amplia inhibición de la expresión génica provocada por el bloqueo de una o varias fases de expresión: transcripción, procesamiento, transporte o traducción. La primera cuestión es si el bloqueo es un efecto directo de los productos de genes del virus o de la defensa antivírica celular. Estos productos del virus cumplen algunas características: interfieren en varias fases, realizan funciones adicionales a la acción inhibitoria y nunca actúan sobre la propia expresión vírica [Lyles D et al., *Microbiol Mol Biol Rev.* 64:709-24 (2000)]. Desde finales de los ochenta, se conoce la existencia de un mecanismo inusual de traducción, independiente de la caperuza, en el que el mRNA vírico presenta una secuencia estructural denominada «sitio interno de entrada al ribosoma» (IRES, por sus siglas en inglés). El virus de la hepatitis C (HCV) presenta una traducción iniciada por el IRES, que escapa a la inhibición: la proteasa 2A vírica escinde el dominio de asociación de eIF4G con eIF4E, que se une a la caperuza del mRNA del hospedador, impidiendo que el ribosoma lo reconozca. Otra proteína vírica, NS5A, inhibe la actividad de PKR, inducida por el interferón e implicada en las señales de la apoptosis y la restricción traduccional generalizada (véase la figura). De ahí viene que muchas hepatitis C desarrollen resistencias al interferón alfa. Debido a que la vasta mayoría de los genes celulares presentan una

traducción dependiente de la caperuza y a la elevada conservación de la secuencia de los IRES, este tipo de traducción se ha convertido en una atractiva diana antivírica [Gale MJ et al., *Microbiol Molecular Biol Rev.* 64: 239-80 (2000)]. El dominio activo de NS5A del HCV también está significativamente conservado y representa otra posible diana cuyo bloqueo ayudaría a disminuir la resistencia al interferón.

El objetivo esencial de la inhibición génica mediada por productos víricos es bloquear la respuesta antivírica. La apoptosis representa una de esas respuestas, ya que elimina las células infectadas, y hay distintas estrategias víricas que la retrasan. Los poxvirus codifican múltiples factores de evasión inmune, incluyendo algunos que regulan la apoptosis. Este año se ha descubierto que el virus de la vacuna (VV), el paradigma de poxvirus, codifica F1L, una proteína que interfiere en la ruta de salida del citocromo c de la mitocondria al citosol. Muchos menos son los virus que codifican inductores de la apoptosis para obtener ciertas ventajas, como favorecer la difusión de los viriones a través de la fagocitosis de cuerpos apoptóticos. La apoptosis no provoca una respuesta inflamatoria local, por lo que el virus puede seguir infectando y evadir el sistema inmune. El sistema de interferencia por RNA (RNAi) ofrece otra defensa antivírica de eucariotas para la que muchos



Bloqueo de la traducción celular

virus codifican supresores específicos. Incluso la ruta ubiquitina-proteosoma (UPP), tradicionalmente asociada a procesos de defensa, se ha implicado recientemente en la maduración de proteínas de las cápsidas de los retrovirus, incluido el HIV.

Los análisis detallados del patrón de expresión de las células infectadas revelan fenómenos de transactivación específica de los genes, aunque el mecanismo molecular subyacente es aún oscuro. Algunas interpretaciones apuntan a estrategias por las cuales los virus alcanzan la infectividad requerida para el desarrollo de la enfermedad: aumento de la capacidad de adsorción a la célula diana, como el caso de un virus neumotrópico que incrementa la cantidad de una proteasa del espacio bronquial, y que se ha descubierto necesaria para la maduración de las glucoproteínas de su envuelta; o de la capacidad de expansión tisular, como consigue el virus de la rabia para propagarse por el tejido nervioso por vía axonal/trans-sináptica [Prosniak M et al., PNAS. 98:2758-63 (2001)].

Los estudios de estos patrones de expresión están particularmente centrados en las viriosis persistentes o crónicas. El objetivo es comprender cómo estos virus evaden la defensas y prolongan la infección hasta hacerla crónica. La persistencia vírica supone una estrategia ideal para proporcionar una fuente mayor y más duradera de contagio. Es típica la aparición de una «coevolución» virus-célula en la que el virus no termina de matar a la célula y logra mantener una producción intermitente de viriones.

En junio del 2003, la revista Journal of Virology publicó un interesante artículo del CSIC donde se analizaba la expresión génica de células HeLa infectadas con el VV mediante la tecnología de las micromatrices [Guerra S et al., J Virol. 77:6493-506 (2003)]. De los 15000 cDNA humanos usados, el 90% se reprimían claramente, pero un 2,8% daba un sólido patrón de inducción: glutamato Descarboxilasa 2, CD-80, pericentrina...; uno de ellos, WASP, se analizó más detalladamente, ya que una familia relacionada, N-WASP, está implicada en la motilidad intracelular del VV. La WASP se iba acumulando incluso hasta formar inclusiones citoplasmáticas en las células

infectadas. Se trata del primer análisis cuantitativo que puso de manifiesto la expresión intensificada de los genes con un papel potencial en la replicación del VV.

El gran potencial de variación de los virus RNA genera mutantes que escapan a la acción del sistema inmune. SIDA, hepatitis C, rotavirus, virus respiratorio sincitial... son algunos ejemplos que se suman a la lista de vacunas pendientes. Algunas se llegan a dar por imposibles. Además, muchas de las enfermedades contra las cuales no se dispone de vacuna, tampoco tienen una quimioterapia antivírica eficaz. La alta frecuencia de mutación del HIV ha llevado desde finales de los noventa al uso de mezclas de tres fármacos (terapia HAART), con la esperanza de hacer más difícil la aparición de resistencias a los tres fármacos a la vez. La HAART consigue bajar la carga vírica hasta unas cantidades indetectables, pero el retrovirus permanece latente en el genoma. Además, produce muchos efectos secundarios que, en ocasiones, provocan la discontinuidad de su seguimiento, lo que favorece la aparición de resistencias. El uso actual del «cóctel» ribavirina-interferón contra la hepatitis C tiene efectos significativos en algunos pacientes.

Otra problemática de la quimioterapia antivírica reside en los efectos secundarios. Una nueva alternativa, derivada de la teoría de las cuasiespecies, consiste en incrementar la tasa de error de replicación por encima de un umbral que, si se sobrepasa, provoca la aparición de genomas víricos funcionalmente inviables (catástrofe de error) que conducen a la extinción a la clase viable. Este fenómeno se está ensayando con hipermutágenos como la ribavirina o el 5-fluorouracilo (un conocido antitumoral), y aún más interesante, actúan con éxito a dosis bajas [Grande-Pérez A et al., PNAS. 102: 4448-52 (2005)].

La generación de resistencias a antivíricas es esperable desde el principio. En el mundo de los antimicrobianos, a veces, hay que hacer esfuerzos sostenidos durante mucho tiempo para que, tras la victoria contra la enfermedad, volvamos al punto inicial. Pero los renovados bríos con el comienzo de la era de los antivíricos han marcado la necesidad de una investigación básica en busca de nuevas dianas de ataque y a la difícil tarea de resolver los límites del «metabolismo vírico».

