

Nº 187
Marzo 2016
Publicación
trimestral

SEBBM

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR



VIRUS EN EL CONO SUR

SEBBM
SEBBM



Número 187 – Marzo 2016

SEBBM es una publicación periódica de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular

© SEBBM. Los artículos y colaboraciones reflejan la opinión de sus autores y no necesariamente la opinión de la SEBBM. Se autoriza la reproducción del contenido, siempre que se cite la procedencia.

Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular

Rodríguez San Pedro, 2 - 2ª pl.

Dpcho. 210 - 28015 Madrid

Tel.: 91 561 33 81 - Fax: 91 561 32 99

e-mail: sebbm@sebbm.es

<http://www.sebbm.es>

Editor: Miguel Ángel de la Rosa

Editor honorario: Joan J. Guinovart

Editor adjunto: Joaquim Ros

Consejo editorial: Félix Goñi, Joan J. Guinovart, Federico Mayor-Menéndez, Xavier Pujol, Joaquim Ros, Miguel Ángel de la Rosa, Vicente Rubio

Director: Xavier Pujol Gebellí.

Secciones:

Investigación: Joaquim Ros

Educación Universitaria: Ángel Herráez

Crítica de libros: Juli Peretó

Ciencia en Autonomías: José María Vega

Sociedad: César de Haro

Empresas: Itziar Alkorta

Coordinación del número 187:

Marcelo López-Lastra

Redactor jefe: José M. Valdés

chema@grupoicm.es

Publicidad: Sonia Bautista

sonia@grupoicm.es

Publica:



Grupo ICM Comunicación S.L.

Avda. de San Luis, 47

28033 Madrid

Tel.: 91 766 99 34 - Fax: 91 766 32 65

www.grupoicm.es

e-mail: sebbm@grupoicm.es

ISSN: 1696-473X

Depósito legal: B-2470-99

Impresión: Rivadeneyra.

Edición digital: www.sebbm.es/revista

SUMARIO

TRIBUNA

Tiempo de cambios 4

Federico Mayor Menéndez

EDITORIAL

Además de, no en vez de 5

Miguel Ángel de la Rosa

DOSSIER CIENTÍFICO

Virología en el Cono Sur; el despertar 6

Marcelo López-Lastra

ARN genómico de VIH: rutas alternativas para terapias alternativas 9

Camila Pereira, Nora Peñailillo, Fernando Valiente y Ricardo Soto

Factores virales e inmunológicos del hospedero que afectan a la gravedad de la infección por virus de influenza 13

Aldo Barrera, Tamara García, Karla Tapia y Rafael A. Medina

Diversidad genética de virus entéricos en el ambiente y en niños hospitalizados con gastroenteritis 20

Rodney Colina, Matías Victoria, Fernando López Tort, Andrés Lizasoain, Matías Castells,

Luciana Burutarán, Leticia Maya, María J. Benítez, Matías Salvo y Estefany Bertony

Virus Respiratorio Sincicial: un desafío para la salud pública a nivel mundial 26

Claudia A. Rivera, Rodrigo A. Díaz, Pablo F. Céspedes, Alexis M. Kalergis

ENTREVISTA

Joan Guinovart 33

"Las grandes sociedades científicas deben repensarse continuamente"

Xavier Pujol Gebellí

POLÍTICA CIENTÍFICA

Una revolución llamada CRISPR 36

Xavier Pujol Gebellí

RESEÑA

Oliver Sacks. Un científico con muchas aficiones 39

Francisco J. Morales-Olivas

EDUCACIÓN UNIVERSITARIA

Llámallo Bolonia, o llámallo sentido común e imaginación 40

Ángel Herráez

ENTIDADES COLABORADORAS

CRISPR Core Partnership Program, un ejemplo de colaboración entre la empresa y la academia 43

Itziar Alkorta

REFERENCIAS 44

Joaquim Ros

IN MEMORIAM 47

José María Segovia de Arana.

Por Federico Mayor Zaragoza

SOCIEDAD

Ganadores del concurso "Cuéntaselo a tus padres" 48

Marta Cascante recibe la Medalla Narcís Monturiol 49

María A. Blasco, premio Miguel Catalán 2015 49

Fernando Moreno Herrero, premio Miguel Catalán a Jóvenes Investigadores 49

AGENDA Y CATABOLITOS 50

TIEMPO DE CAMBIOS

Este número de la revista **SEBBM** inicia una nueva etapa. Como ya se avanzó a los socios en la Asamblea de Valencia y se informó en un reciente mensaje, la Junta Directiva y el equipo editorial han tomado esta decisión con el fin de consolidar la sostenibilidad económica de la revista. Así, desde enero de 2016, el *Grupo ICM de Comunicación* es nuestra nueva empresa editora. Es el momento de agradecer a *Rubes*, encargada de esta tarea en los últimos trece años, y muy especialmente a su director Jaume Estruch, su excelente trabajo y profesionalidad, que ha contribuido de forma destacada a la transformación de la revista que lideró Joan Guinovart durante este periodo.

La etapa que ahora comienza lleva asociada cambios en el formato digital e impreso y en algunas secciones, así como incorpora una página web renovada (www.sebbm.es/revista). Gracias a nuestro editor, Miguel Angel de la Rosa, por coordinar todos estos cambios en los últimos meses. Confiamos en que estas iniciativas, que se suman a otras recientes como la profunda renovación del portal de la **SEBBM**, contribuyan a reforzar la visibilidad de las actividades de nuestra Sociedad y sean útiles y atractivas para los socios.

En otro orden de cosas, en el ámbito político de nuestro país los resultados de las elecciones generales del pasado mes de diciembre han dado lugar a una situación que exigirá complejos pactos para configurar un nuevo Gobierno. Esperemos que la investigación y la educación constituyan un elemento relevante y tengan la adecuada priori-



Federico Mayor Menéndez

Presidente SEBBM

dad en los programas de gobierno que puedan configurarse. Así lo exigen el papel clave de la I+D+i en el desarrollo de las sociedades y el creciente peso que los criterios científicos deberían tener en la toma de decisiones por parlamentos y administraciones públicas en ámbitos como el medioambiental, la energía, y las políticas sanitarias e industriales, entre otros. En este sentido, sería deseable que la orientación de la política científica y el necesario diálogo entre científicos y responsables políticos encontrase las fórmulas más adecuadas y eficaces posibles (mediante un Mi-

nisterio en el que la Ciencia aparezca al máximo nivel, consejos asesores u otras que se puedan establecer), para así promover los escenarios estables de financiación y de reclutamiento y retorno de investigadores tantas veces reclamados. En todo caso, es muy importante que las presentes circunstancias de indeterminación política no afecten una vez más al calendario habitual de convocatorias de proyectos y de recursos humanos, que no debe sufrir retrasos ni alentar incertidumbres.

LA ETAPA DE LA REVISTA QUE AHORA COMIENZA LLEVA ASOCIADA CAMBIOS EN EL FORMATO DIGITAL E IMPRESO Y EN ALGUNAS SECCIONES, ASÍ COMO LA PROFUNDA RENOVACIÓN DEL PORTAL DE LA SEBBM, INICIATIVAS QUE ESPERAMOS CONTRIBUYAN A REFORZAR LA VISIBILIDAD DE LAS ACTIVIDADES DE NUESTRA SOCIEDAD Y SEAN ÚTILES Y ATRACTIVAS PARA LOS SOCIOS.

ADEMÁS DE, NO EN VEZ DE

Hace años se puso de moda cierto régimen de adelgazamiento basado en la ingesta de barritas con alto contenido en fibra vegetal. El objetivo era provocar una fuerte demanda de líquido, sensación de saciedad y ausencia de apetito. Tras varias semanas de régimen, un señor acudió extrañado al médico porque no conseguía perder peso, incluso había llegado a engordar. Sorprendido también el galeno, le pidió detallar el protocolo seguido, a lo que aquel contestó, no sin preocupación, que la dieta le estaba resultando harto incómoda pues no le eran nada apetecibles las susodichas barritas al finalizar cada comida. La respuesta no se hizo esperar: ¡Señor, le dije “en vez de, no además de”! Exclamación parecida, si bien a la inversa, nos surge espontánea ante el devenir de las políticas presupuestarias de I+D+I europeas y españolas, tanto a nivel nacional como regional, en estos últimos años.

El año 2020 se ha fijado como fecha clave para la consecución de los grandes objetivos de la UE y sus estados miembros. Primero fueron la estrategia general de crecimiento *Europa 2020* y el programa-marco de investigación y desarrollo *Horizonte 2020*. Y ahora, próximas a su lanzamiento efectivo, las denominadas estrategias *RIS3* (del inglés, *Regional Innovation Strategy for Smart Specialization*), englobadas en *Europa 2020* y complementarias a *H2020*. Las *RIS3* se configuran como estrategias integradas de transformación económica territorial a fin de promover un cambio radical en la estrategia de innovación en Europa.

Europa 2020, en su conjunto, pretende centrar la inversión futura de la UE y alcanzar objetivos concretos en cinco áreas principales, a saber: empleo, innovación, educación, inclusión social y clima/energía. A su vez, cada estado ha adoptado sus propios objetivos nacionales en cada una de dichas áreas, diseñando estrategias concretas de especialización a fin de que los Fondos Estructurales y de Inversión Europeos puedan utilizarse de forma más eficaz y facilitar las sinergias entre las políticas regionales, nacionales y europeas, así como las inversiones públicas y privadas. A través de un proceso previo de “descubrimiento de emprendedores”, las estrategias *RIS3* persiguen que los estados y regiones de la UE identifiquen las especializaciones de conocimientos que mejor se ajusten a su potencial de innovación. La “estrategia de especialización inteligente” no se impone, pues, desde arriba, sino que requiere el trabajo conjunto



Miguel Ángel de la Rosa

Editor de SEBBM

de empresas, centros de investigación y universidades para identificar las áreas de especialización más prometedoras de un estado o región, pero también los puntos débiles que obstaculizan la innovación. El fin último es convertir la innovación en una prioridad para todas las regiones.

En SEBBM no podemos más que admirar y aplaudir tan ingente esfuerzo integrador de las políticas de I+D+I en buena parte del continente, pero tampoco podemos ignorar la preocupación por el peligro cierto de polarizar en exceso las inversiones hacia la “transferencia del conocimiento generado” (o liderazgo técnico-empresarial) más que hacia la “generación de nuevo conocimiento” (o liderazgo científico-académico). En los países europeos de cabeza, con un sistema nacional de I+D+I

estable y bien financiado, las nuevas políticas dirigidas a enfrentar los retos sociales y promocionar la innovación industrial suponen un refuerzo sustancial, pero en los países menos desarrollados, como el nuestro, con un entramado científico-técnico todavía inestable y escasamente dotado, pueden conducir a un mayor debilitamiento.

Parafraseando al galeno dietista, los dineros que vienen de Europa deben ser “además de, no en vez de” los fondos nacionales y regionales, esenciales para mantener un sistema básico de I+D+I competitivo y duradero. No olvidemos que el liderazgo técnico-empresarial está sometido a las frecuentes oscilaciones del mercado global, en tanto el liderazgo científico-académico se sustenta en el saber acumulado de años y años... y difícilmente se alcanza el primero sin el segundo.

**EN SEBBM NO PODEMOS MÁS QUE ADMIRAR
Y APLAUDIR TAN INGENTE ESFUERZO
INTEGRADOR DE LAS POLÍTICAS DE I+D+I
EN BUENA PARTE DEL CONTINENTE,
PERO TAMPOCO PODEMOS IGNORAR
LA PREOCUPACIÓN POR EL PELIGRO
CIERTO DE POLARIZAR EN EXCESO LAS
INVERSIONES HACIA LA “TRANSFERENCIA DEL
CONOCIMIENTO GENERADO” MÁS QUE HACIA
LA “GENERACIÓN DE NUEVO CONOCIMIENTO”**

Virología en el Cono Sur; el despertar

Marcelo López-Lastra

Profesor de Virología Molecular, Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile

Los virus son parásitos intracelulares obligatorios que constituyen un grupo de agentes infecciosos muy particulares. Existen aquellos capaces de infectar al hombre, animales, plantas, hongos y bacterias. Los virus presentan una especificidad estricta por un organismo, o bien por algunos tipos celulares que componen a este organismo, denominado tropismo viral. Esta característica restringe la infección viral a células dianas específicas; por tanto, aún cuando un virus infecte a un organismo complejo como es el hombre, el virus sólo se multiplicará en algunos compartimentos biológicos de este. Esto resalta la necesidad de los virus por su huésped y la dependencia del virus por su entorno celular.

Dada esta interacción, se podría anticipar que un virus no debiese impactar de manera negativa a su huésped, puesto que al hacerlo inevitablemente termina afectando su propia integridad. Sin embargo, desde su caracterización inicial, los virus fueron reconocidos como agentes patogénicos caracterizados por su pequeño tamaño. De hecho, el primer informe documentado de un agente patogénico más pequeño que las bacterias conocidas en la época aparece en 1892. Este corresponde a un estudio del científico ruso Dimitry Ivanowsky, quien observa que la enfermedad del mosaico del tabaco era producido por un agente infeccioso que era capaz de atravesar un filtro de porcelana el cual retenía de manera eficiente a las bacterias conocidas de la época. Esta observación fue luego confirmada por el científico holandés Martinus Beijerinck, dando por iniciada la caza de agentes patogénicos filtrables: los virus. Por tanto, en el inicio de lo que luego se conocería como virología, o estudio de los virus, jugaron un papel importante las herramientas experimentales que ayudaron a determinar las características cuantificables del agente, filtros de porcelana y la capacidad del agente de producir un fenotipo específico y cuantificable en el individuo infectado: la patología.

Es así como desde el inicio de la virología se estableció que estos agentes eran patogénicos. Con la llegada de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva, esta visión parece estar cambiando al reconocer la existencia de muchísimas secuencias potencialmente asociadas a agentes virales que no serían del todo

patogénicas. Existe de hecho evidencia que sugiere que para algunos organismos (plantas y hongos) el relacionarse con un virus le confiere capacidades adaptativas importantes al entorno, permitiéndoles sobrevivir en condiciones extremas. A pesar de esta posible asociación positiva desde el punto de vista del interés médico, los virus patogénicos siguen y seguirán representando enemigos a los cuales hay que derrocar. Sin embargo, y muy a pesar del éxito considerable en el desarrollo de una serie de vacunas y fármacos eficaces, en la actualidad existe un consenso general de que la lista de patógenos emergentes o re-emergentes virales continúa incrementándose. Solo durante las últimas décadas, patógenos virales humanos tales como el virus de la Hepatitis C, el virus Dengue, el virus de inmunodeficiencia humana, los múltiples virus asociados a enfermedades gastrointestinales o a enfermedades respiratorias como el virus respiratorio sincicial, el metaneumovirus y más recientemente el virus de la Influenza A (H1N1); o bien los virus emergentes como el virus Chikungunya, el coronavirus que produce Síndrome Respiratorio del Nilo Oriental, el virus de Ebola y el virus Zika han surgido en diferentes partes del mundo causando un impacto severo en las diferentes poblaciones afectadas.

Esto corresponde a una lista muy reducida de agentes virales que causan un impacto directo (enfermedad) en la población humana. Los patógenos infecciosos continúan causando un gran número de infecciones y muertes, particularmente en los países en desarrollo. Así mismo, la aparición de nuevos agentes infecciosos y enfermedades, así como el resurgimiento de patógenos conocidos en formas más virulentas, que pueden contener resistencia a antivirales, continúan siendo una particular preocupación. De forma importante, las enfermedades infecciosas emergentes no solo afectan a la salud humana contribuyendo a la carga de los sistemas de salud pública en todo el mundo, sino que también pueden afectar significativamente la producción animal y vegetal para el consumo humano. En este último caso los patógenos virales afectarían las fuentes de alimento necesarias para la manutención de una población en constante crecimiento.

En el futuro previsible, el clima y los cambios ambientales, la globalización, la urbanización y el crecimiento de la población humana, así como el desplazamiento de la



población desde una zona geográfica a otra, pueden comenzar a representar una nueva amenaza a los países tanto en desarrollo como desarrollados. Dado que es complejo poder contener la diseminación de un agente viral en los contextos señalados. Esto se aprendió bien durante la pandemia de virus influenza del 2009. Los patrones climáticos cambiantes, así como las necesidades locales de energía y espacio por habitación, que puedan

resultar en el represamiento de los ríos, hecho que potencialmente puede alterar el hábitat del vector (animal o insecto) que porta un virus, puede asimismo afectar la abundancia de estos vectores así como su distribución, acercándolos más a la población humana incrementando así el riesgo del surgimiento de patologías zoonóticas. Es así como el desarrollo de nuevas infraestructuras en zonas rurales, evento necesario para el desarrollo sustentable >>>

del país, también proporciona un escenario real para la aparición de enfermedades zoonóticas nuevas y por tanto sin tratamiento específico ni vacuna preventiva.

El pasado nos enseña, sin embargo, que tendemos a olvidar. Esta fragilidad de memoria nos lleva a cometer los mismos errores una y otra vez. A este respecto, los invito a recordar cómo el virus de la fiebre amarilla impactó en la política de la región centroamericana y dificultó el progreso social y económico que constituyó la construcción del canal de Panamá. En la actualidad viajar es fácil y rápido. La alta frecuencia de infecciones entre los viajeros conlleva que las enfermedades infecciosas se desplacen fácilmente a través de las fronteras, convirtiéndose rápidamente en una amenaza global que puede afectar al estilo de vida y bienestar de una población desprotegida. Es así como un país que por mucho tiempo puede haberse encontrado aislado, protegido por siglos por sus barreras naturales (desierto, hielo, montañas y mar), se transforma ahora en un blanco vulnerable. Aquí, nuevamente nos podemos detener a reflexionar sobre lo que nos enseña el pasado; basta recordar como los agentes

EN LA ACTUALIDAD, viajar es fácil y rápido. La alta frecuencia de infecciones entre los viajeros conlleva que las enfermedades infecciosas se desplacen fácilmente a través de las fronteras, convirtiéndose rápidamente en una amenaza global que puede afectar seriamente al estilo de vida y bienestar de una población desprotegida.

virales fueron un aliado fiel de los nuevos arribados al continente americano durante la conquista del nuevo mundo diezmando ferozmente a la población indígena. Existen múltiples casos que ejemplifican el impacto histórico, económico y social de un patógeno viral sobre una población desprotegida.

En este escenario global, hoy, el control y la prevención de las enfermedades infecciosas se han convertido en un asunto de seguridad nacional para muchos países, dado que el desarrollo sostenible sólo es posible si los países pueden derrotar a las enfermedades infecciosas que debilitan su población. En este contexto los invito a reflexionar sobre los eventos recientes asociados a la aparición de los virus Chikungunya, Ebola, y Zika.

Sudamérica no está ajena a esta realidad y dado el complejo escenario que los virus emergentes y re-emergente representan para la salud humana hoy, se avala la inversión local para agrupar y formar equipos multidisciplinario de médicos y científicos altamente calificados para llevar a cabo investigación básica,

clínica y traslacional en virología. Existe una necesidad urgente de generar nuevo conocimiento y experiencia científica local dirigida a comprender los procesos moleculares que determinan la evolución de los virus, la relación virus-hospedero incluyendo inmunidad, la transmisión de estos patógenos, virulencia y patogenicidad. Es fundamental poder llevar estos conocimientos a la clínica de manera rápida y eficiente. Para esto, es fundamental crear la infraestructura e institucionalidad necesaria para asegurar que el proceso sea adecuado y efectivo. Con este espíritu, diversos grupos de investigadores e institutos de investigación se han establecido en los diferentes países que componen nuestro cono Sur, contribuyendo así a establecer las plataformas científicas necesarias para dar respuesta a las necesidades locales de investigación, clínica y, sobre todo, para asistir en la formación del capital humano avanzado (médicos especialistas, MD-PhD, PhD y posdoctorantes) necesario para perpetuar el desarrollo de la virología en el cono Sur.

Los países en Sudamérica han comprendido que deben invertir en el desarrollo del conocimiento a nivel local y regional para así incrementar su capacidad de respuesta ante cualquier nueva amenaza de origen viral que pueda surgir. Es así como en Chile se han establecido diversos centros científicos para el estudio de patógenos virales tanto de plantas y animales, como de humanos. De estos, me permito mencionar al Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia financiado con fondos Programa Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo del Gobierno de Chile y el programa Anillo en Patología Molecular de Virus Emergentes, financiado por la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) del gobierno de Chile.

De Uruguay me permito mencionar el programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA), que ha permitido descentralizar el estudio de la virología desde la capital del país. Estas iniciativas y otras constituyen un pilar fundamental para el desarrollo de la virología en todos sus aspectos en Chile y Uruguay.

En este número especial se han seleccionado trabajos de cuatro laboratorios Sudamericanos tres establecidos en Chile y uno en Uruguay que participan de manera activa al desarrollo del conocimiento en Virología. Estos trabajos abordan problemas locales, enfatizando en las necesidades de la región, así como en problemas generales con temas que impactan de manera directa a la población global. A mi humilde juicio, estos grupos conformados principalmente por científicos jóvenes representan el despertar de la virología en el cono Sur.

ARN genómico de VIH: rutas alternativas para terapias alternativas

Camila Pereira-Montecinos, Nora Peñailillo-Cabrera, Fernando Valiente-Echeverría, Ricardo Soto-Rifo

¹Laboratorio de Virología Molecular y Celular, Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) pertenece al género *Lentivirus* de la familia de los *Retrovirus* y es el agente etiológico de una de las pandemias más devastadoras de la actualidad: el Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Según el último reporte del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) actualmente viven 36,9 millones de personas infectadas en el mundo, con dos millones de nuevos infectados al año y cerca de 40 millones de muertes asociadas al SIDA desde 1981. A pesar de la disponibilidad de los tratamientos antirretrovirales, aún no es posible erradicar el virus del organismo y en consecuencia el SIDA es considerado una enfermedad crónica no curable que requiere tratamiento de por vida.

Existen dos tipos de VIH: VIH-1 y VIH-2. Aunque ambos infectan principalmente linfocitos-T, células dendríticas y macrófagos, el VIH-1 es el responsable de la pandemia. La partícula viral consta de una membrana lipídica, una matriz y la cápside con dos copias idénticas de ARN genómico (ARNg) que codifican para las proteínas estructurales (Gag y Env), enzimas (Pol), y proteínas reguladoras y accesorias (Tat, Rev, Vpu/Vpx, Vif, Nef, Vpr). Cabe destacar que dentro de la partícula viral también se encuentran las enzimas virales proteasa (PR), transcriptasa inversa (RT) e integrasa (IN), necesarias en etapas tempranas del ciclo replicativo y por ende principales blancos para las terapias actuales (Figura 1). Como se esquematiza en la Figura 1, el ciclo replicativo del VIH comienza con el reconocimiento del receptor CD4 y uno de los co-receptores de quimioquinas CCR5 o CXCR4 en la célula blanco, para dar paso >>>

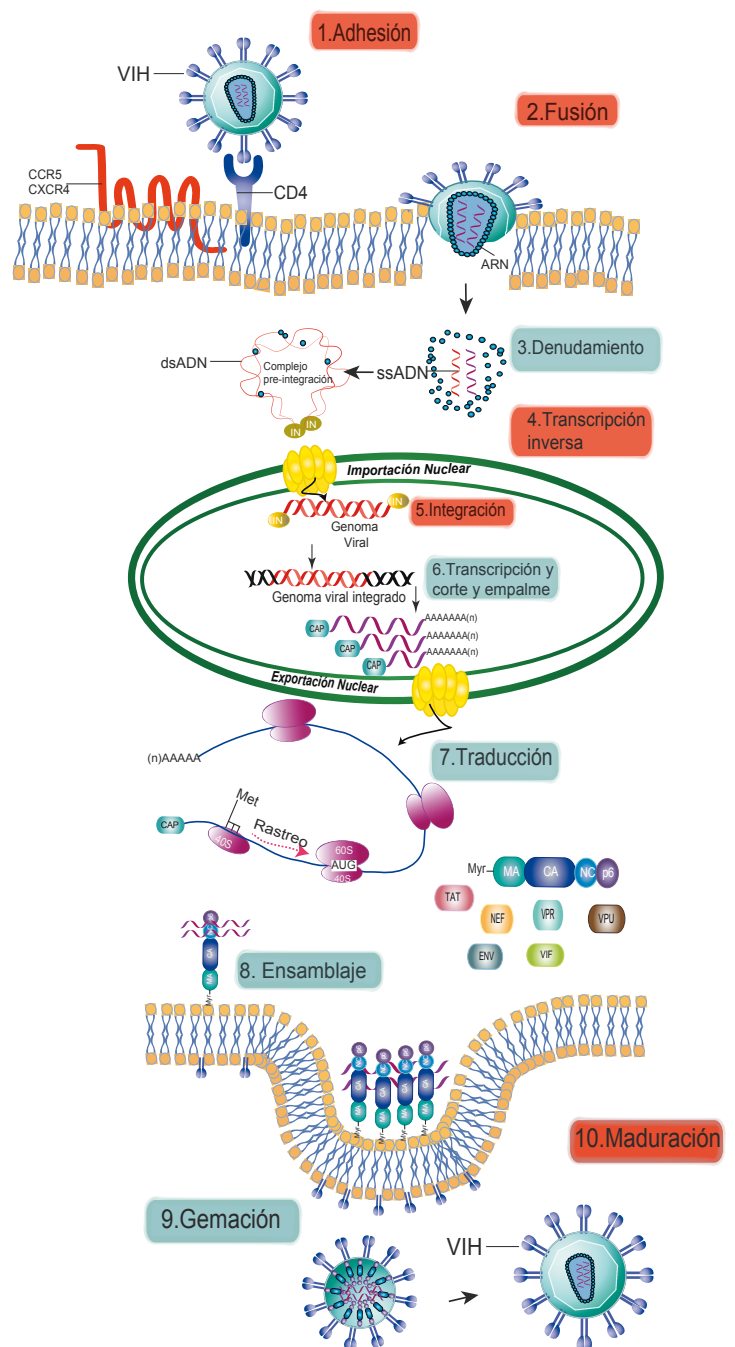


Figura 1

Ciclo replicativo del VIH

Representación esquemática del ciclo replicativo del VIH indicando sus etapas principales. Los cuadros en rojo indican las etapas del ciclo que son utilizadas actualmente como blanco terapéutico por las drogas aprobadas por la FDA. Es posible apreciar que aún no existen drogas que actúen sobre las diferentes funciones que cumple el ARNg.

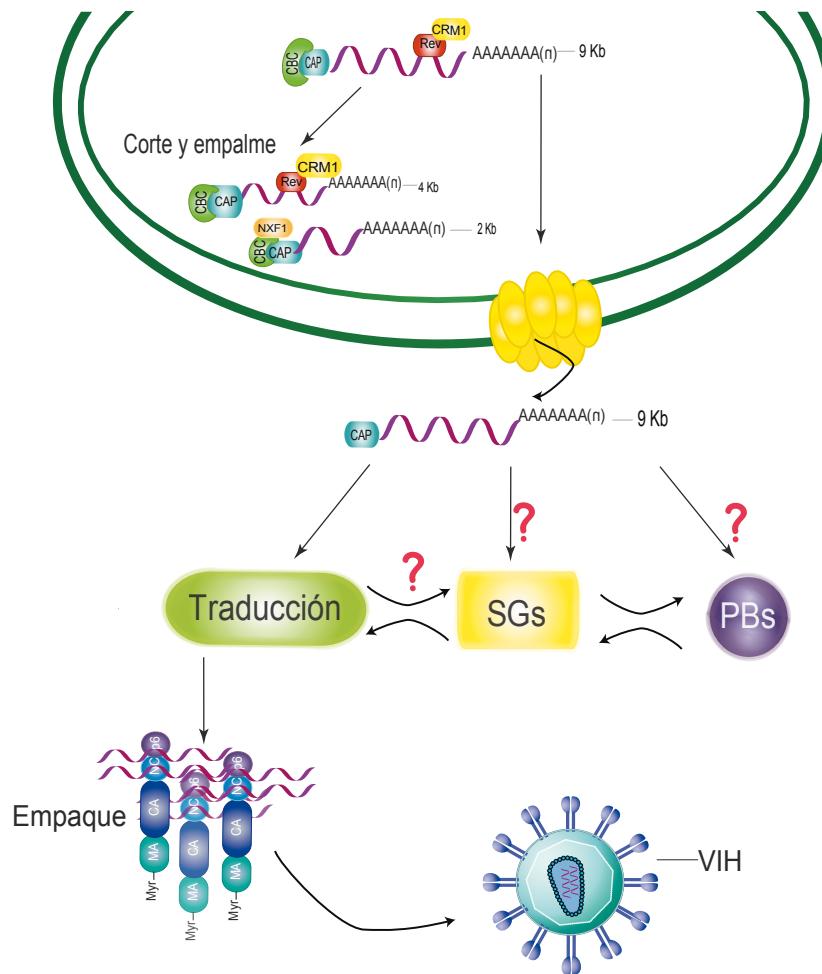


Figura 2

Destino del ARNg de VIH.

Una vez transcrito, el ARNg de 9-kb puede sufrir corte y empalme alternativo para generar los transcritos de 2-kb y 4-kb. Los transcritos de 2-kb se asocian al factor de exportación de ARNm celulares NXF1 y son exportados del núcleo por la vía canónica. Los ARNm de 4-kb y el ARNg son exportados por una vía alternativa regulada por la proteína viral Rev en asociación con el factor de exportación celular CRM1. En el citoplasma, el ARNg es traducido para generar la proteína estructural mayor, Gag y las enzimas Gag-Pol para ser posteriormente utilizado como el genoma viral que será empaquetado en las nuevas partículas virales. Durante la traducción, el ARNg podría encontrarse en equilibrio con diferentes RNP como los SG o los PBs los cuales podrían jugar un rol fundamental en el equilibrio traducción-empaquetamiento.

>>> a una fusión de ambas membranas permitiendo el ingreso de la cápside viral al citoplasma. Posterior al denudamiento de la cápside, el genoma viral es convertido en ADN de doble hebra por la enzima viral RT para ser importado al núcleo e integrado en el genoma de la célula blanco dando origen a lo que llamamos “provirus”. El provirus puede permanecer latente o continuar el ciclo replicativo bajo una expresión génica eficiente¹. La transcripción del provirus resulta en la expresión de más de 40 transcritos a partir del corte y empalme alternativo de un transcrito único, el ARN mensajero (ARNm) completo de 9-Kb (idéntico al ARNg), generando los ARNm de 4-kb (con procesamiento parcial) y ARNm de 2-kb (con procesamiento completo). El ARNm completo de 9-kb es sintetizado por la ARN polimerasa II celular por lo que posee una estructura m⁷-metil-guanosina (cap) en su extremo 5’ y una cola de poliadenosinas en su extremo 3’. Además de servir como pre-ARNm, el

ARNm de 9-kb, sin procesar, posee una función dual en el ciclo replicativo, ya que es utilizado como ARNm para la síntesis de las proteínas Gag, y Gag-Pol y como genoma incorporado en las nuevas partículas virales². Estas características hacen que los procesos asociados a la regulación postranscripcional de este ARNm viral sean blancos atractivos para el desarrollo de nuevas terapias. Por estas razones, ahondaremos en los mecanismos que regulan al ARNg a nivel postranscripcional.

PROCESAMIENTO DEL ARNg Y EXPORTACIÓN NUCLEAR

La presencia de múltiples sitios dadores y aceptores de corte y empalme en el ARNg, permite el procesamiento alternativo que lleva a la generación de tres subpoblaciones de transcritos virales. Los transcritos de 2-kb, codifican para las proteínas Tat, Rev y Nef mientras que el de 4-kb, codifican para las proteínas Env, Vpu, Vpr y Vif². Los

diversos transcritos virales son exportados del núcleo al citoplasma, mediante la formación de complejos ribonucleoproteicos (RNPs) específicos. La mayoría de los ARNm celulares sufren una remoción completa de los intrones, al igual que los transcritos virales de 2-kb, y en consecuencia son exportados al citoplasma a través del factor de exportación nuclear NXF1/Tap³ (*Figura 2*). Los transcritos virales que contienen intrones no pueden ser exportados por la vía dependiente de NXF1 y son retenidos y degradados en el núcleo⁴. Sin embargo, la proteína viral Rev reconoce los ARNm de 9kb y de 4 kb a través del Elemento de Respuesta a Rev (RRE)^{3,5}

ESTUDIOS recientes del ensamble de cápsides inmaduras, han demostrado que los intermediarios formados durante el proceso contienen Gag junto a proteínas relacionadas con PB, incluyendo a AGO2 y DDX6, las cuales se cree catalizan el ensamble de la cápside. Por otra parte se ha observado que Mov10 interactúa específicamente con el ARN de VIH-1.

y por medio de una señal de exportación nuclear (NES) se asocia al factor de exportación nuclear CRM1 permitiendo la salida del complejo Rev-RRE (*Figura 2*).

TRADUCCIÓN

Una vez en el citoplasma, los transcritos virales deben reclutar la maquinaria de traducción de la célula. En eucariontes, el reclutamiento de los ribosomas ocurre por dos mecanismos principales los cuales dependen o no del reconocimiento de la estructura cap. Se ha observado que el ARN genómico de VIH-1 utiliza ambos mecanismos mediante la formación de distintos tipos de RNPs que reclutaran al ribosoma⁶.

Durante el inicio de la traducción cap-dependiente, la holoenzima eIF4F se une al cap y desenrolla las estructuras locales del ARNm, en conjunto con eIF4B/eIF4H⁶. El complejo eIF4F está compuesto por la proteína de unión al cap, eIF4E la proteína de andamiaje eIF4G y eIF4A. Una vez sobre el cap, eIF4F permite que se forme el complejo de iniciación 48S gracias a la interacción entre eIF4G y eIF3, el cual está asociado a la subunidad ribosomal 40S (*Figura 2*). En este punto comienza el rastreo en dirección 5' a 3' desde el cap hasta encontrar el codón de inicio, comúnmente el codón AUG. Recientemente se demostró que efectivamente ocurre un rastreo en la 5'-UTR del ARNg de VIH-1 pese al alto grado de estructuración⁶. Sin embargo, en este proceso intervienen factores adicionales como las helicasas de ARN DDX3 y RHA, las cuales favorecen tanto el reconocimiento del cap como el rastreo.

El inicio de la traducción cap-independiente se ha observado principalmente en ARNm virales que carecen

de una estructura cap, pero que poseen una secuencia específica denominada Sitio Interno de Entrada al Ribosoma (IRES), presente generalmente en la 5'-UTR y cuya función es facilitar el reclutamiento de la subunidad ribosomal 40S⁶. El mecanismo preciso no está completamente entendido ya que los IRES carecen de una secuencia consenso conservada. La presencia de elementos IRES permite la traducción de ARNs bajo condiciones desfavorables, donde la traducción cap-dependiente se ve comprometida⁷. Se ha reportado que la síntesis de las proteínas del virus es altamente dependiente del cap en las primeras 24-48 horas de la replicación viral, mientras que a tiempos tardíos la traducción dependiente de IRES es necesaria para asegurar la producción de partículas virales⁶. Un aspecto interesante de este mecanismo tiene relación con su activación durante la fase G2/M del ciclo celular, el cual es inducido por la proteína viral Vpr.

GRÁNULOS DE ESTRÉS Y CUERPOS DE PROCESAMIENTO

Aquellas células expuestas a diversos tipos de estrés, como una infección viral, desencadenan la rápida detención de la traducción generando el desensamble de polisomas⁸. Estos eventos gatillan un triaje molecular, donde las células deben tomar la decisión sobre el destino del ARNm que es liberado de los polisomas: silenciamiento o degradación⁹. Estos eventos han llevado a la célula a generar diferentes clases de RNPs; entre ellos, los gránulos de estrés (SG) y los cuerpos de procesamiento (PB) que contribuyen al ciclo de vida y regulación del ARNm.

Los SG son RNPs, formados en el citoplasma como respuesta a varios tipos de estrés celulares. La composición de proteínas y ARN de los gránulos es dinámica y se encuentra en equilibrio con los polisomas. Dentro del contenido de los SG se encuentran ARNm heterogéneos, factores de inicio de la traducción, la subunidad ribosomal 40S y otras proteínas de unión a ARN incluyendo TIA-1, TIAR, G3BP, Staufen1, entre otras⁸. Se ha determinado que el ensamble inicial de SG requiere la agregación de factores dependientes de gránulos de estrés (SGDFs), incluyendo G3BP1 y TIA-1/TIAR. Pese a esta rápida respuesta celular a condiciones de estrés, estudios muestran que VIH-1 interfiere con el ensamble de SG a través de una interacción de la proteína viral Gag con dos SGDFs: el factor de elongación de la traducción eEF2 y G3BP1¹⁰ (*Figura 2*).

A diferencia de los SG, los PBs son estructuras citoplasmáticas constitutivas, que se encuentran enriquecidas en proteínas implicadas en el catabolismo del ARNm (deadenilación, hidrolisis del cap y degradación del ARNm) y represión de la traducción incluyendo Argonauta, DDX6, Mov10, APOBEC3G (A3G), Dcp1a/Dcp2 y Xrn1¹¹. Estudios recientes del >>>

ensamble de cápsides inmaduras, han demostrado que los intermediarios formados durante el proceso contienen Gag junto a proteínas relacionadas con PB, incluyendo a AGO2 y DDX6, las cuales se cree catalizan el ensamble de la cápside¹². Por otra parte se ha observado que Mov10 interactúa específicamente con el ARN de VIH-1 y su incorporación en la partícula es tan eficiente como la de A3G. Estudios demuestran que la sobreexpresión de Mov10 puede potencialmente inhibir la replicación de VIH-1 en múltiples etapas, que incluyen la producción del virus, el procesamiento proteolítico de Gag y la transcripción inversa. En otros trabajos se ha señalado que reducciones de niveles de Mov10 endógeno pueden afectar la infectividad lo que sugiere que niveles adecuados de esta proteína celular son necesarios para llevar a cabo la replicación viral.

CONCLUSIONES

El ARNg es esencial para la replicación del VIH por lo que su destino en el núcleo y citoplasma de la célula está altamente regulado por proteínas virales y celulares. Así, este ARN viral se encuentra asociado a múltiples complejos ribonucleoproteicos que le permiten i) ser procesado mediante corte y empalme alternativo; ii) ser exportado a través de la vía alternativa Rev/CRM1, iii) ser traducido eficientemente por mecanismos dependientes e independientes del cap y iv) ser empaquetado por la proteína viral Gag para formar nuevos viriones (*Figura 2*). Es indispensable entender en profundidad los mecanismos que regulan las diferentes funciones del ARNg y que lo llevan a ensamblarse en diferentes complejos ribonucleoproteicos en asociación a proteínas virales como Rev y celulares como las helicasas de ARN DDX3, RHA, DDX6 o Mov10. Es relevante también comprender como el ensamble de complejos macromoleculares como los SGs y PBs y la interacción del virus con diferentes de sus componentes regulan diferentes etapas del ciclo replicativo viral, como la transición traducción-empaque. Estos conocimientos

nos permitirán identificar nuevos blancos terapéuticos que permitirán bloquear la expresión génica viral y/o el ensamblaje de nuevas partículas virales.

BIBLIOGRAFÍA

- Engelman, A. & Cherepanov, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Nat Rev Microbiol* 10, 279–90 (2012).
- Purcell, D. F. & Martin, M. a. Alternative splicing of human immunodeficiency virus type 1 mRNA modulates viral protein expression, replication, and infectivity. *J Virol* 67, 6365–6378 (1993).
- Cullen, B. R. Nuclear mRNA export: insights from virology. *Trends Biochem Sci* 28, 419–424 (2003).
- Felber BK, Hadzopoulou-Cladaras M, Cladaras C, Copeland T & Pavlakis GN. rev protein of human immunodeficiency virus type 1 affects the stability and transport of the viral mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 1495–1499 (1989).
- Cochrane, A. W., Chen, C. H. & Rosen, C. A. Specific interaction of the human immunodeficiency virus Rev protein with a structured region in the env mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 1198–202 (1990).
- Rojas-Araya, B., Ohlmann, T. & Soto-Rifo, R. Translational Control of the HIV Unspliced Genomic RNA. *Viruses* 7, 4326–4351 (2015).
- Spriggs, K. a, Stoneley, M., Bushell, M. & Willis, A. E. Re-programming of translation following cell stress allows IRES-mediated translation to predominate. *Biol Cell* 100, 27–38 (2008).
- María Gabriela Thomas, Mariela Loschi, M. A. D. and G. L. B. RNA granules: the good, the bad and the ugly. *Cell Signal* 23, 324–334 (2011).
- Anderson, P. & Kedersha, N. Stress granules: the Tao of RNA triage. *Trends Biochem Sci* 33, 141–50 (2008).
- Valiente-Echeverría, F. *et al.* eEF2 and Ras-GAP SH3 domain-binding protein (G3BP1) modulate stress granule assembly during HIV-1 infection. *Nat Commun* 5, 4819 (2014).
- Jain, S. & Parker, R. *The Discovery and Analysis of P Bodies. Ten Years of Progress in GW/P Body Research SE - 12* 768, (2013).
- Reed, J. C. *et al.* HIV-1 Gag co-opts a cellular complex containing DDX6, a helicase that facilitates capsid assembly. *J Cell Biol* 198, 439–456 (2012). ■

Factores virales e inmunológicos del hospedero que afectan la gravedad de la infección por virus de influenza

Aldo Barrera^{1^}, Tamara García^{1,2^}, Karla Tapia¹ y Rafael A. Medina^{1,2,3*}

¹Laboratorio de Virología Molecular; Departamento de Enfermedades Infecciosas e Inmunología Pediátrica, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. ²Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia.

³Department of Microbiology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai.

[^]contribución compartida; * Autor correspondiente.

RESUMEN

A pesar del gran desarrollo en la investigación molecular del virus influenza, y la existencia de vacunas y antivirales que permiten combatir la infección, la gripe sigue siendo una de las enfermedades respiratorias más importantes. Esta causa estacionalmente un número substancial de enfermedades e incluso la muerte en la población humana, generando además una carga económica considerable para los sistemas de salud a nivel mundial. Numerosos factores pueden modular la gravedad de esta enfermedad. Estos están relacionados con interacciones complejas donde influyen el genotipo del patógeno, la respuesta inmune, las condiciones preexistentes y la susceptibilidad (o predisposición) del hospedero, como también los factores ambientales que favorecen la infección. La naturaleza multifactorial de la patogénesis del virus de influenza enfatiza la necesidad de nuevos enfoques para entender la evolución clínica y desarrollar mejores vacunas y opciones de tratamiento para combatir la enfermedad.

Los virus de Influenza A (VIA) son miembros de la familia de virus *Orthomyxoviridae* y constituyen los agentes etiológicos de la patología conocida como gripe en humanos. La información genética del VIA está contenida en ocho segmentos de ARN de hebra simple y polaridad negativa, que pueden codificar hasta 12 proteínas, incluyendo dos importantes antígenos de superficie: las glicoproteínas Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA)¹.

El hospedero principal del VIA son las aves acuáticas silvestres; no obstante, también infecta aves de corral, cerdos, caballos y perros, entre otros. La habilidad de estos virus de infectar diversos hospederos permite generar cepas con re-arreglos genómicos, debido al intercambio de segmentos del genoma entre distintas cepas, originando virus antigénicamente diferentes (fenómeno conocido como cambio antigénico). Es así como los VIA han sido clasificados en subtipos de acuerdo a las propiedades antigénicas de sus glicoproteínas HA y NA. A la fecha se han descrito cepas de virus de 18 subtipos de HA y 11 de NA, de los cuales los subtipos H1 al H16 y N1 al N9 se han encontrado en aves silvestres, mientras que

los subtipos H17 y H18, y los N10 y N11, sólo se han identificado recientemente en murciélagos². Actualmente en humanos sólo circulan los subtipos H1N1 y H3N2. Por tanto, cepas de subtipos distintos contra las cuales la población carece de anticuerpos, tienen el potencial de generar nuevas pandemias³.

Este ha sido el caso de todas las pandemias de las que se tiene información genética. La gran pandemia del 1918, también denominada la “gripe española”, causada por una cepa H1N1 de origen aviar, ha sido considerada la más devastadora en los registros de la medicina moderna⁴. En 1957, una cepa H2N2, generada desde la combinación de genes de VIA H2N2 aviar y H1N1 humano, fue introducida en la población dando lugar a la pandemia conocida como la gripe asiática. Asimismo, en 1968 la pandemia de Hong-Kong H3N2 fue generada por un re-arreglo entre la cepa H2N2 humana y una cepa H3 de origen aviar. Luego, en 1977 reapareció la cepa H1N1, la que desde entonces co-circula junto a la cepa H3N2⁵. La última pandemia, ocurrida el año 2009, se debió a la introducción de la cepa denominada pdmH1N1-2009. Esta se originó en cerdos, donde se evidencia un re-arreglo de virus H1N1 humano con virus aviares y clásicos de origen porcino⁶. Este brote emergió repentinamente en la primavera del hemisferio Norte, posiblemente en México, y se caracterizó por su rápida transmisión en la población humana a nivel global, reemplazando la cepa H1N1 estacional circulante en ese momento^{1,3}.

Desde los 90s se han descrito además infecciones esporádicas por cepas H5N1 y H7N9 de VIA de origen aviar, principalmente en el Sureste de Asia, con rango de mortalidad entre 24 y 100%⁷. Esto ha generado gran preocupación a nivel mundial por el riesgo que estas cepas adquieran la capacidad de ser transmitidas eficientemente en humanos, dada la susceptibilidad de la población por falta de inmunidad previa, lo que podría causar una nueva pandemia de características altamente patogénicas⁸.

FACTORES DE VIRULENCIA

Dada la presión selectiva inmunológica que se genera en las glicoproteínas de superficie HA y NA, se inducen >>>

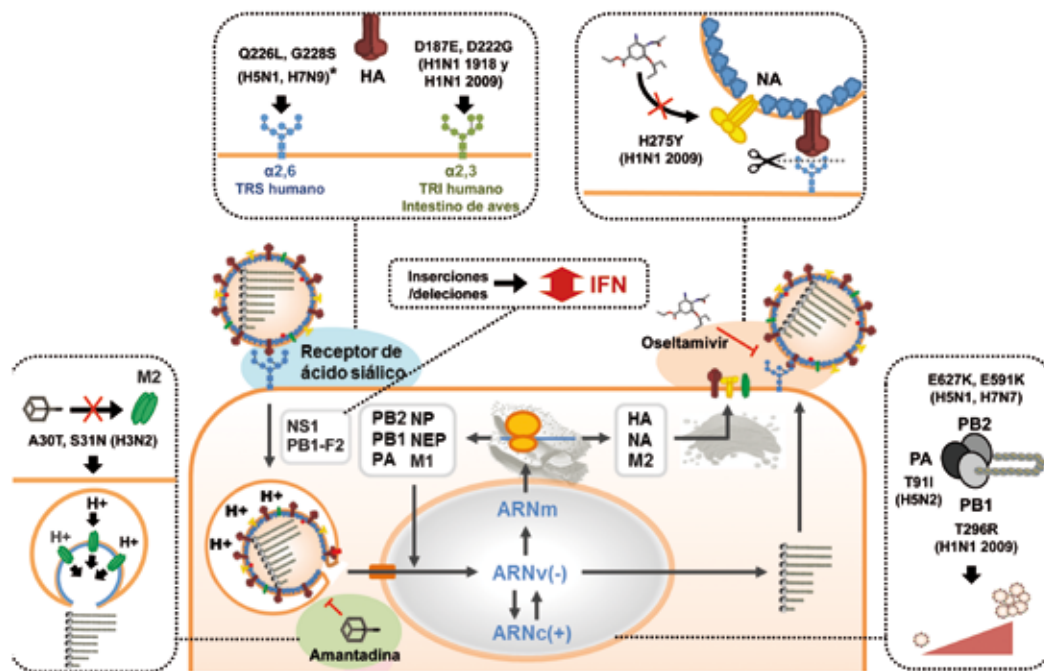


Figura 1

Marcadores moleculares de virulencia en el ciclo replicativo del virus de influenza A. Durante la infección, el virus puede adquirir sustituciones y/o deleciones en su genoma a través de presión selectiva en proteínas virales que median el ingreso a la célula (HA, M2), pueden incrementar la replicación (PB2, PB1, PA), producir la inhibición de la respuesta celular antiviral (NS1, PB1-F2), la inducción de apoptosis (PB1-F2) o la liberación eficiente de los viriones (NA), entre otras. NA y M2 son blancos de drogas antivirales que además pueden adquirir mutaciones de resistencia. Las mutaciones se muestran en numeración H1 (*= numeración H3). TRS: tracto respiratorio superior. TRI: tracto respiratorio inferior. IFN: interferón.

>>> cambios antigénicos que permiten la evolución del virus. Así, se generan y conservan mutaciones capaces de evadir la respuesta inmune humoral (de anticuerpos neutralizantes), lo que además resulta en una reducción de la efectividad de las vacunas actuales. Esto además proporciona al virus la capacidad de infectar nuevos hospederos y de circular de forma estacional en la población.

La adquisición constante de mutaciones en el genoma del virus se debe a que la polimerasa viral carece de la capacidad de autocorrección durante la replicación⁹. Por ejemplo, en la HA se han descrito mutaciones en

superior expresa principalmente ASs con enlaces α -2,6, mientras que el tracto respiratorio inferior (TRI) expresa predominantemente ASs α -2,3. La mutación D222G de cepas pdmH1N1-2009 produce un cambio de afinidad hacia α -2,3, lo cual facilitaría al virus expandir la infección al TRI¹⁰, y generar una neumonía viral. De hecho, esta mutación se ha detectado frecuentemente en pacientes con infecciones graves¹¹. Asimismo, la preferencia al receptor puede afectar la transmisibilidad del virus, permitiendo que virus aviares puedan infectar humanos¹². También existen mutaciones sobre proteínas internas del virus, que modulan la capacidad replicativa o la respuesta antiviral de la célula. Se sabe que varias de estas sustituciones son capaces de modificar directamente la virulencia y/o aumentar la patogenicidad del virus, siendo clasificados como marcadores de virulencia (Figura 1). Ejemplos de esto constituyen las mutaciones sobre proteínas que conforman el complejo de la polimerasa viral, como E627K y E591K en la proteína básica 2 (PB2) de virus aviares, necesarias para poder replicar en mamíferos a temperaturas entre 33 y 37°C^{13,14}. Estos cambios también ocurren en otras proteínas de la polimerasa, que aumentan la

síntesis u otorgan una ventaja replicativa en cepas como la del 1918 y las cepas aviares altamente patogénicas. Por otro lado, las cepas H5 y H7 se caracterizan por poseer un sitio de corte múltiple en la HA, las que pueden

LAS CEPAS H5 y H7 se caracterizan por poseer un sitio de corte múltiple en la HA, las que pueden ser procesadas por proteasas intracelulares ubicuas en múltiples órganos. Por tanto, estos virus pueden también replicar fuera del tracto respiratorio, lo que puede llevar a un incremento en la virulencia de la enfermedad debido a una falla multiorgánica.

el dominio de unión al receptor, que pueden generar cambios de afinidad y especificidad hacia receptores de ácidos siálicos (ASs) con conformaciones α -2,6 o α -2,3. Esto es relevante ya que en humanos el tracto respiratorio

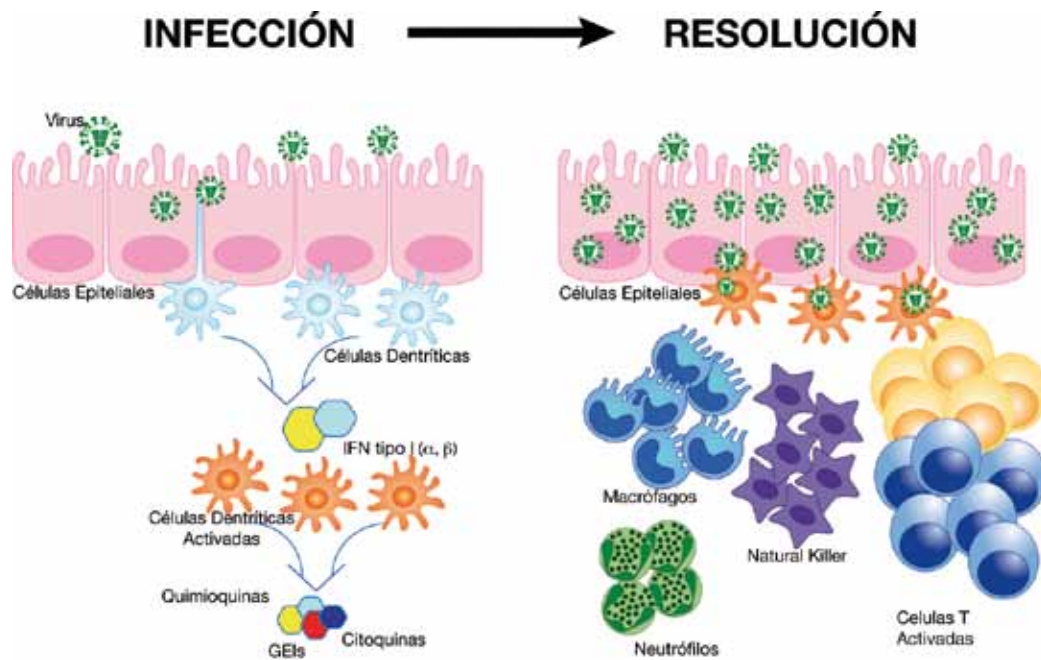


Figura 2

Respuesta inmune frente a la infección por virus de influenza A. La infección se inicia cuando el virus infecta las células epiteliales y las células del sistema inmune presentes en el tracto respiratorio, lo que induce la secreción de Interferón (IFN) tipo I, citoquinas pro-inflamatorias, quimioquinas y eicosanoides. Los IFNs de tipo I (α y β), producidos por células epiteliales, macrófagos, neumocitos, células dendríticas (DCs) y DCs plasmocitoides (pDCs), activan en las células vecinas la expresión de los denominados genes estimulados por IFN (GEIs), responsables de los efectos antivirales, antiproliferativos e inmunomoduladores del IFN. Las citoquinas pro-inflamatorias, tales como las interleuquinas (IL)-1 β , 6 y 8, el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , MIP-1 β , e IFN- γ , entre otras, y los eicosanoides inducen inflamación local y sistémica. Mientras que las quimioquinas reclutan neutrófilos, monocitos y células *Natural Killers* (NK), median la eliminación o *clearance* viral. Adicionalmente, las DCs inducen la activación de los linfocitos T (LT) CD4+ y CD8+, el último mecanismo de defensa a cargo de mediar la eliminación de las células infectadas por el virus y por tanto la resolución de la infección.

ser procesadas por proteasas intracelulares ubicuas en múltiples órganos¹. Por tanto, estos virus pueden replicar fuera del tracto respiratorio, lo que puede llevar a un incremento en la virulencia y la enfermedad debido a una falla multiorgánica¹⁵. Se han descrito también mutaciones que inhiben la función de la proteína no estructural 1 (NS1), que es un antagonista de la respuesta de interferón (IFN) de la célula hospedera, la que es esencial para la replicación temprana del virus¹⁶.

Otras mutaciones también pueden ser generadas frente a tratamientos con antivirales, lo que puede resultar en cepas resistentes. El ejemplo más común se ha observado con oseltamivir (Tamiflu) que actúa como inhibidor del sitio catalítico de NA, la cual media la liberación de los viriones desde la célula hospedera. Durante el tratamiento, mutaciones como H275Y anulan la unión del compuesto activo del fármaco a la proteína¹⁷. Durante el 2007-2008 este tipo de mutaciones aparecieron espontáneamente en la cepa H1 estacional pre-pandémica, lo que en ese momento dejó obsoleto el uso de Tamiflu contra estos virus¹⁸. Desde ese entonces se ha evidenciado la necesidad de desarrollar nuevos inhibidores contra el virus, lo que constituye una área activa de investigación.

Es posible que la diversidad genética en las cepas circulantes contribuya anualmente al número de

casos de pacientes jóvenes, sanos y no susceptibles que desarrollan una enfermedad grave, donde la aparición de mutaciones que confieren al virus una mayor virulencia, podría influenciar el desarrollo de la enfermedad (*Figura 1*). Actualmente, gracias a tecnologías de secuenciación masiva o *deep-sequencing* es posible determinar polimorfismos de nucleótidos simple (PNS) en el genoma del VIA, y su representatividad en una población viral. Por tanto, el estudio de las cuasi-especies virales (o diversidad genética) que se produce durante la infección de un mismo hospedero, constituye una herramienta poderosa para investigar posibles factores de virulencia emergentes. Esto, en el futuro, podría ayudar a determinar la magnitud de la enfermedad que se desarrollará y/o el tratamiento que se deberá suministrar en un individuo particular.

RESPUESTA INMUNE

La infección con el VIA comienza con su ingreso al hospedero por la cavidad nasal u oral, donde se encuentra con el mucus que recubre el epitelio respiratorio, barrera que debe atravesar para infectar tanto las células epiteliales, como las del sistema inmune (*Figura 2*). Al cabo de 48 horas se inicia la sintomatología, caracterizada por fiebre alta ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), malestar general, mialgia, tos, secreción nasal, y >>>

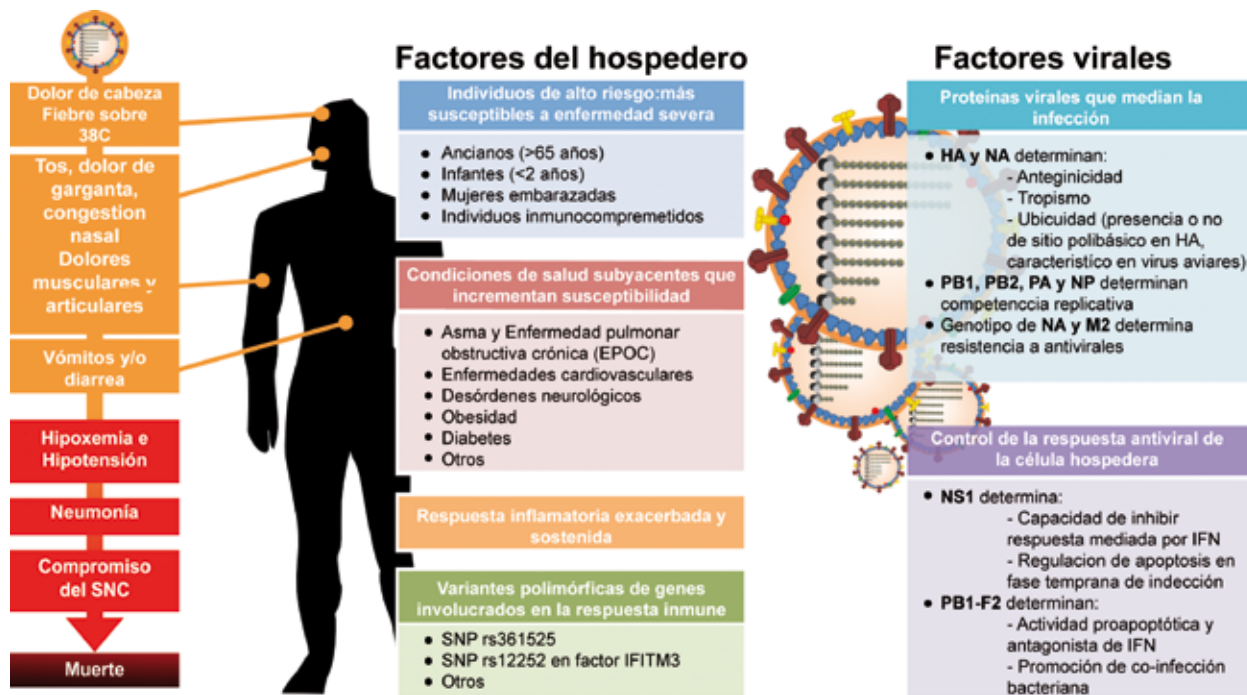


Figura 3

Conjunto de factores del hospedero y virales que median la gravedad de la infección causada por el virus de influenza A. La enfermedad conocida como gripe se manifiesta tempranamente como un resfrío común, que tiene la potencialidad de evolucionar en complicaciones que desencadenan una falla sistémica, lo cual depende de diversos factores. Entre estos se incluyen las edades extremas, las condiciones patológicas e inmunológicas del individuo, y los factores virales que determinan la patogenia del virus.

>>> dolor de cabeza y abdominal, entre otros (Figura 3). Estos síntomas se asocian con la activación del sistema inmune innato inducida principalmente por la respuesta de Interferón (IFN), generando una fase inflamatoria, que dura aproximadamente 4 a 5 días¹⁹. En esta etapa, el ARN viral en las células infectadas es reconocido por receptores de reconocimiento de patrones (RRPs), lo que gatilla la secreción de IFN tipo I, citoquinas pro-inflamatorias, eicosanoides y quimioquinas^{20, 21} (Figura 2). Los IFNs de tipo I (α y β) son producidos por células epiteliales, macrófagos, neumocitos, células dendríticas (DCs) y DCs plasmocitoides (pDCs), y activan en las células vecinas los genes estimulados por IFN (GEIs), que son responsables de los efectos antivirales, antiproliferativos e inmunomodulatorios del IFN^{20, 21}. Por otra parte, las citoquinas pro-inflamatorias (como las interleuquinas 1 β , 6, 8, y TNF- α , MIP-1 β e IFN- γ , entre otras) y los eicosanoides (derivados de ácidos grasos) inducen inflamación local y sistémica, generando fiebre y letargia. Mientras, las quimioquinas reclutan neutrófilos, monocitos y células *Natural Killers* (NK) (Figura 2). Estas últimas son las principales mediadoras de la eliminación o *clearance* viral, ya que

reconocen y lisan las células epiteliales infectadas, las que son eliminadas por los monocitos, neutrófilos y macrófagos alveolares. Además las DCs activan a los linfocitos T (LT) CD4+ o *helper* y CD8+ o citotóxicos, los que también participan en la eliminación de las células infectadas. Durante la etapa final de la infección además se activan los linfocitos B, que maduran a células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos contra los epítopes del VIA contraído, ayudando a neutralizar la infección²². El conjunto de esta respuesta, en un individuo inmunocompetente, resulta en la resolución de la enfermedad en aproximadamente 4 a 5 días^{20, 21} (Figura 2). Este proceso coordinado del sistema inmune promueve una respuesta adecuada capaz de superar la infección por dos mecanismos: reconociendo y eliminando eficientemente al virus (hospedero resistente), y/o reduciendo el impacto negativo al controlar el daño tisular que la infección e inflamación generada (hospedero tolerante). En contraste, una respuesta inmune innata exacerbada puede resultar en la inducción de una “tormenta de citoquinas” que produce una inflamación desregulada que contribuye aún más a la enfermedad,

provocando un síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Esto junto al daño tisular generado por el virus puede inducir una falla multiorgánica, la que incluso puede producir la muerte. Las bases moleculares del por qué algunos individuos son “hospederos altamente susceptibles” a ciertas enfermedades virales pero no a otras, no son del todo claras, y se establece como uno de los retos de la medicina moderna.

FACTORES DEL HOSPEDERO RELACIONADOS CON LA GRAVEDAD DE LA INFECCIÓN

Las pandemias previas al 2009 se caracterizaron por causar enfermedad grave en ciertos individuos o en las poblaciones más susceptibles. Sin embargo, la optimización de la vigilancia clínica durante la pandemia del año 2009, permitió la identificación de nuevos factores de riesgo clínicos en la población (*Figura 3*), pero con una comprensión limitada de los mecanismos inmunológicos involucrados y de las variaciones genéticas que pudiesen contribuir a la enfermedad. A la fecha se han identificado factores de riesgo para el VIA, tales como edad extrema (<2 años y >65 años), embarazo (especialmente durante el 3er trimestre), comorbilidades (asma, obesidad, diabetes, condiciones cardíacas, etc.) y compromiso inmunológico. No obstante, estos sólo explican una fracción de los casos graves²³⁻²⁵. La infección causada por la cepa pdmH1N1-2009 presentó altas tasas de morbilidad entre los adultos de edad media y jóvenes sanos, muchos de ellos sin comorbilidades^{26,27,29}. Por ende, se estima que existen múltiples factores que podrían dar cuenta de las altas tasas de complicaciones observadas durante la enfermedad, las que en muchos casos convergen en algún grado de disfunción del sistema inmune, lo cual pudiese afectar la habilidad de un individuo de montar una respuesta adecuada frente a la infección. Así también, la presencia de polimorfismos en genes relacionados con la activación y señalización de la respuesta inmune pueden estar asociados al desarrollo de una enfermedad grave debido a la incapacidad de un individuo de eliminar la infección³⁰.

POLIMORFISMOS EN GENES DEL SISTEMA INMUNE

La identificación de polimorfismos genéticos que otorgan susceptibilidad para contraer o cursar una enfermedad viral grave, se ha establecido como un nuevo paradigma de la medicina moderna. Este enfoque ha ayudado a determinar, por ejemplo, el rol de IL-28B (también conocida como IFN λ 3) en la respuesta al tratamiento contra Hepatitis C (una expresión alta de esta citoquina correlaciona con una respuesta insuficiente al tratamiento)³¹ y la infección

producida por el hantavirus Andes (la expresión alta de IL-28B se asocia a una enfermedad grave)³². Mientras, que para el VIA, los niveles basales e intermedios de esta citoquina se han relacionado con un incremento de la seroconversión generada por la vacuna³³.

Durante la pandemia del 2009 se identificaron algunos PNS asociados a la respuesta inmune y la gravedad de la infección por VIA. Algunos de estos son el gen del receptor de quimioquina C-C tipo 5 (CCR5), presente en macrófagos, LT y DCs, encargados de mediar la migración de estas poblaciones leucocitarias³⁴, y otro el gen de los receptores tipo inmunoglobulina de células Killer (KIR), que comprenden un grupo de receptores presentes en las células NK con capacidades inhibitorias, lo que permite modular la actividad de estas células³⁵, entre otros³⁶. También se han identificado otros PNSs, como el PNS rs361525 en el gen del factor de necrosis tumoral (TNF), donde el alelo menor (A) es más frecuente en individuos infectados³⁷; o el PNS rs12252 en el gen de la proteína transmembrana inducible por interferón 3 (IFITM3), que genera una variante no funcional debido a una delección de

LAS PANDEMIAS previas al 2009 se caracterizaron por causar enfermedad grave en ciertos individuos o en aquellas poblaciones más susceptibles. Sin embargo, la optimización de la vigilancia clínica durante la pandemia del año 2009, permitió la identificación de nuevos factores de riesgo clínicos en la población.

21 aminoácidos en el extremo N-terminal, que esta asociada a un incremento en la replicación viral y se encontró con más frecuencia en individuos caucásicos que desarrollaron un cuadro grave de influenza^{38,39}. No obstante, existen datos controversiales sobre el rol de IFITM3 en distintas etnias, dado que un estudio reciente en la población China no encontró correlación entre este PNS en particular y una enfermedad grave⁴⁰. Por otro lado, un estudio reciente de un cuadro grave de influenza durante una infección primaria en un individuo pediátrico identificó mutaciones nulas en el factor de transcripción regulatorio de interferón 7 (IRF7), proteína encargada de amplificar la producción de IFN en pDCs, que resultan en una proteína no funcional. Esto genera una falla en la amplificación del IFN tipo I y III mediada por IRF7, la que parece ser requerida para la protección contra una infección primaria con el VIA⁴¹. Por tanto, un cuadro grave de influenza puede producirse debido a PNSs particulares de genes involucrados en la respuesta inmune del hospedero, lo que enfatiza la necesidad de establecer >>>

»» la relevancia o prevalencia de estos polimorfismos en distintas poblaciones.

CONCLUSIONES

A pesar de la extensa investigación que se ha realizado sobre el virus de influenza, aún falta tener un entendimiento más acabado a nivel molecular sobre los factores virales y del hospedero que modulan la enfermedad. Por ende, se requiere el desarrollo de nuevas investigaciones realizadas en modelos experimentales apropiados, en conjunto con estudios básicos-clínicos que sean capaces de integrar el uso de nuevas ciencias "Ómicas" tales como análisis genómicos, transcriptómicos, proteómicos, entre otros. Estos estudios tienen el gran potencial de aportar nuevos conocimientos que generen un impacto en la salud de la población. Así se podrán identificar nuevos blancos terapéuticos contra proteínas virales y además permitirá dilucidar vías específicas, activadas diferencialmente entre individuos con una susceptibilidad diversa, lo

A PESAR DE LA EXTENSA INVESTIGACIÓN, se requiere el desarrollo de nuevos estudios realizados en modelos experimentales apropiados, en conjunto con estudios básicos-clínicos que sean capaces de integrar el uso de nuevas ciencias "Ómicas" tales como análisis genómicos, transcriptómicos o proteómicos, entre otros.

que a su vez ayudará a establecer el rol de variantes genéticas que determinan la susceptibilidad de distintas poblaciones del mundo, ante diversos patógenos.

AGRADECIMIENTOS

El Laboratorio de Virología Molecular está financiado por el Proyecto Anillo de Investigación en Ciencia y Tecnología - ACT1408: Patogénesis Molecular de Virus Emergentes de CONICYT Chile, por el Proyecto Puente UC No. 1/2015, y por el proyecto P09/016-F del Programa Iniciativa Científica Milenio del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo de Chile.

PARA LEER MÁS

F McNab, K Mayer-Barber, A Sher, A Wack and A O'Garra. "Type I interferons in infectious disease". *Nat Rev Microb* 15 (2015) 87-103.

JL Casanova. "Human genetic basis of interindividual variability in the course of infection". *Proc Natl Acad Sci* (2015). doi/10.1073/pnas.1521644112.

S Tripathi, MO Pohl, Y Zhou, A Rodriguez-Frandsen, G Wang, DA Stein, HM Moulton, P DeJesus, J Che, LC Mulder, E Yángüez, D Andenmatten, L Pache, B Manicassamy, RA Albrecht, MG Gonzalez, QNguyen, A Brass, S Elledge, M White, S Shapira, N Hacohen, A

Karlas, TF Meyer, M Shales, A Gatorano, JR Johnson, G Jang, T Johnson, E Verschuere, D Sanders, N Krogan, M Shaw, R König, S Stertz, A García-Sastre, SK Chanda. "Meta- and Orthogonal Integration of Influenza "OMICs" Data Defines a Role for UBR4 in Virus Budding". *Cell Host Microbe* 18 (2015) 723-735.

JN Mandl, R Ahmed, LB Barreiro, P Daszak, JH Epstein, HW Virgin, MB Feinberg. "Reservoir Host Immune Responses to Emerging Zoonotic Viruses". *Cell* 160 (2015) 20-35.

BIBLIOGRAFÍA

1. Medina, R.A. & Garcia-Sastre, A. Influenza A viruses: new research developments. *Nat Rev Microb* 9, 590-603 (2011).

2. Tong, S. et al. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog* 9, e1003657 (2013).

3. Palese, P. & Wang, T.T. Why do influenza virus subtypes die out? A hypothesis. *MBio* 2 (2011).

4. Garcia-Sastre, A. & Whitley, R.J. Lessons learned from reconstructing the 1918 influenza pandemic. *J Infect Dis* 194 Suppl 2, S127-32 (2006).

5. Khiabani, H., Trifonov, V. & Rabadan, R. Reassortment patterns in Swine influenza viruses. *PLoS Curr* 1, RRN1008 (2009).

6. Smith, G.J. et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature* 459, 1122-5 (2009).

7. Uyeki, T.M. Human infection with highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus: review of clinical issues. *Clin Infect Dis* 49, 279-90 (2009).

8. Fineberg, H.V. Pandemic preparedness and response--lessons from the H1N1 influenza of 2009. *N Engl J Med* 370, 1335-42 (2014).

9. Drake, J.W. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 4171-5 (1993).

10. Shang, C., Whittleston, C.S., Sutherland-Cash, K.H. & Wales, D.J. Analysis of the Contrasting Pathogenicities

Induced by the D222G Mutation in 1918 and 2009 Pandemic Influenza A Viruses. *J Chem Theory Comput* 11, 2307-2314 (2015).

11. Chen, H. et al. Quasispecies of the D225G substitution in the hemagglutinin of pandemic influenza A(H1N1) 2009 virus from patients with severe disease in Hong Kong, China. *J Infect Dis* 201, 1517-21 (2010).

12. Imai, M. & Kawaoka, Y. The role of receptor binding specificity in interspecies transmission of influenza viruses. *Curr Opin Virol* 2, 160-7 (2012).

13. Hatta, M. et al. Growth of H5N1 influenza A viruses in the upper respiratory tracts of mice. *PLoS Pathog* 3, 1374-9 (2007).

14. Yamada, S. et al. Biological and structural characterization of a host-adapting amino acid in influenza virus. *PLoS Pathog* 6, e1001034 (2010).

15. de Jong, M.D. et al. Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med* 12, 1203-7 (2006).

16. Hale, B.G. Conformational plasticity of the influenza A virus NS1 protein. *J Gen Virol* 95, 2099-105 (2014).

17. Gubareva, L.V. et al. Comprehensive assessment of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus drug susceptibility in vitro. *Antivir Ther* 15, 1151-9 (2010).

18. Moscona, A. Global transmission of oseltamivir-resistant influenza. *N Engl J Med* 360, 953-6 (2009).

19. Hermesh, T., Moltedo, B., Lopez, C.B. & Moran, T.M. Buying time—the immune system determinants of the incubation period to respiratory viruses. *Viruses* 2, 2541-58 (2010).
20. Iwasaki, A. & Pillai, P.S. Innate immunity to influenza virus infection. *Nat Rev Immunol* 14, 315-28 (2014).
21. Pulendran, B. & Maddur, M.S. Innate immune sensing and response to influenza. *Curr Top Microbiol Immunol* 386, 23-71 (2015).
22. Baumgarth, N. How specific is too specific? B-cell responses to viral infections reveal the importance of breadth over depth. *Immunol Rev* 255, 82-94 (2013).
23. Chowell, G. et al. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *N Engl J Med* 361, 674-9 (2009).
24. Echevarria-Zuno, S. et al. Infection and death from influenza A H1N1 virus in Mexico: a retrospective analysis. *Lancet* 374, 2072-9 (2009).
25. Presanis, A.M. et al. The severity of pandemic H1N1 influenza in the United States, April - July 2009. *PLoS Curr* 1, RRN1042 (2009).
26. Kumar, A. et al. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) infection in Canada. *JAMA* 302, 1872-9 (2009).
27. Zarychanski, R. et al. Correlates of severe disease in patients with 2009 pandemic influenza (H1N1) virus infection. *CMAJ* 182, 257-64 (2010).
28. Campbell, A. et al. Risk of severe outcomes among patients admitted to hospital with pandemic (H1N1) influenza. *CMAJ* 182, 349-55 (2010).
29. Louie, J.K. et al. Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California. *JAMA* 302, 1896-902 (2009).
30. Keynan, Y., Malik, S. & Fowke, K.R. The role of polymorphisms in host immune genes in determining the severity of respiratory illness caused by pandemic H1N1 influenza. *Public Health Genomics* 16, 9-16 (2013).
31. Angulo, J. et al. Genetic variations in host IL28B links to the detection of peripheral blood mononuclear cells-associated hepatitis C virus RNA in chronically infected patients. *J Viral Hepat* 20, 263-72 (2013).
32. Angulo, J. et al. Association of Single-Nucleotide Polymorphisms in IL28B, but Not TNF-alpha, With Severity of Disease Caused by Andes Virus. *Clin Infect Dis* 61, e62-9 (2015).
33. Egli, A. et al. IL-28B is a key regulator of B- and T-cell vaccine responses against influenza. *PLoS Pathog* 10, e1004556 (2014).
34. Keynan, Y. et al. Chemokine receptor 5 big up tri, open32 allele in patients with severe pandemic (H1N1) 2009. *Emerg Infect Dis* 16, 1621-2 (2010).
35. La, D. et al. Enrichment of variations in KIR3DL1/S1 and KIR2DL2/L3 among H1N1/09 ICU patients: an exploratory study. *PLoS One* 6, e29200 (2011).
36. Zuniga, J. et al. Genetic variants associated with severe pneumonia in A/H1N1 influenza infection. *Eur Respir J* 39, 604-10 (2012).
37. Antonopoulou, A. et al. Role of tumor necrosis factor gene single nucleotide polymorphisms in the natural course of 2009 influenza A H1N1 virus infection. *Int J Infect Dis* 16, e204-8 (2012).
38. Brass, A.L. et al. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell* 139, 1243-54 (2009).
39. Everitt, A.R. et al. IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature* 484, 519-23 (2012).
40. Yang, X. et al. Interferon-Inducible Transmembrane Protein 3 Genetic Variant rs12252 and Influenza Susceptibility and Severity: A Meta-Analysis. *PLoS One* 10, e0124985 (2015).
41. Ciancanelli, M.J. et al. Infectious disease. Life-threatening influenza and impaired interferon amplification in human IRF7 deficiency. *Science* 348, 448-53 (2015).

Diversidad genética de virus entéricos en el ambiente y en niños hospitalizados con gastroenteritis

Rodney Colina, Matías Victoria, Fernando López Tort, Andrés Lizasoain, Matías Castells, Luciana Burutarán, Leticia Maya, María J. Benítez, Matías Salvo, Estefany Bertony.

Laboratorio de Virología Molecular, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Salto, Uruguay.

A nivel mundial, la gastroenteritis aguda infantil (GAI) ha sido reportada como uno de los principales problemas de salud pública y es la segunda causa de mortalidad en niños menores de 5 años de edad, apenas superada por las neumonías. Los pacientes con mayor riesgo de hospitalización y muerte debido a la GAI son principalmente niños entre 6 meses y 2 años de edad. La GAI afecta mayormente a los niños en países en vías de desarrollo, donde existe una tasa de mortalidad más elevada debido principalmente a un acceso limitado al agua potable, carencias en el saneamiento básico y factores de riesgo nutricional, como el amamantamiento por un tiempo inferior al adecuado, deficiencia de zinc y vitamina A. A estos, se les suma un servicio precario de asistencia médica, en particular en algunas regiones geográficas de difícil acceso.

Debido a los importantes avances científicos de los últimos años en el área de la biología molecular, ha sido posible generar poderosas metodologías diagnósticas que nos permiten detectar y estudiar rápidamente los agentes infecciosos que causan la GAI, tanto a nivel clínico como a partir de distintas matrices de origen ambiental.

Los virus se definen como los agentes etiológicos más importantes de gastroenteritis aguda (GA) y GAI en el mundo, y entre los más comunes están aquellos pertenecientes a las familias virales *Reoviridae* (principalmente los rotavirus del Grupo A – RVA), *Caliciviridae* (principalmente los norovirus -NV- de los genogrupos I y II – NVGI y NVGII), *Astroviridae* 6 (principalmente los mamastrovirus 1 – MAsV-1), y *Adenoviridae* (principalmente los adenovirus entéricos – AdVE).

Solamente los RVA y NV en conjunto han sido reportados como responsables de más del 50% de las muertes por GAI de niños menores de cinco años de edad a nivel global.

A su vez, los RVA constituyen los agentes etiológicos más importantes de GAI en niños menores de 5 años de edad en todo el mundo. Debido a esto, 79 países en todo el mundo han incorporado las vacunas anti-RVA en sus Programas Nacionales de Vacunación (PNV).

Uruguay, junto a Chile, Surinam y Guayana Francesa, son los únicos países de América del Sur que aún no han incorporado estas vacunas en sus PNV. Estas vacunas han demostrado ser muy eficaces en reducir las hospitalizaciones y muertes por GAI. Los NV humanos son los agentes etiológicos más importante de brotes de GA en humanos a nivel mundial y, a diferencia de RVA, afecta a personas de todos los grupos etarios. Debido a esto, actualmente vacunas contra el NV están en fase de desarrollo en diferentes regiones del mundo. En el caso de las GAI, los NV han sido definidos como los segundos en importancia epidemiológica luego de los RVA. Al igual que los RVA y NV, los MAsV-1 han sido reporta-

DEBIDO A LOS AVANCES CIENTÍFICOS

de los últimos años en el área de la biología molecular, ha sido posible generar poderosas metodologías diagnósticas que nos permiten detectar y estudiar rápidamente los agentes infecciosos que causan la gastroenteritis aguda infantil, tanto a nivel clínico como a partir de distintas matrices de origen ambiental.

dos en todas las regiones del planeta y han sido establecidos como el segundo o tercer agente etiológico más importante de GAI, luego de los RVA y los NV, respectivamente, dependiendo de la región geográfica.

En América latina existen importantes antecedentes de detección y caracterización molecular de las cepas de RVA, NV y MAsV-1 en casos de GAI en la mayoría de los países de la región. En este contexto, es de destacar la enorme cantidad de estudios que se han realizado en Brasil y Argentina, siendo ambos los principales países que han contribuido al conocimiento de la epidemiología molecular de estos virus en la región desde mediados de 1990, sobre todo en RVA. Estos resultados han permitido generar un detallado conocimiento del impacto en la salud infantil y la sociedad en general por parte de los mencionados virus y a establecer la epidemiología molecular de las cepas que circulan en todo el territorio y en cada una de sus regiones. Estos logros >>>

han hecho posible que hoy en día se haya implementado la vacuna para RVA en ambos países.

En el caso de Uruguay, no hay informes sobre estudios de NV y MAstV-1 en casos de GAI. Solamente el RVA ha sido estudiado y todos los estudios han sido llevados a cabo a partir de muestras obtenidas en la ciudad de Montevideo, con solo un reporte de este virus realizado en el interior del país. La mayoría de estos estudios fueron publicados en revistas científicas nacionales y solo cuatro de ellos fueron publicados en revistas internacionales indexadas. De estos cuatro estudios, solo uno de ellos realizó la caracterización molecular parcial de los genotipos de RVA de acuerdo a los estándares que recomienda la OMS y en muestras obtenidas hace 15 años atrás.

A su vez, es importante destacar que en Uruguay existen muy pocos laboratorios que hacen investigación en virología y los mismos están focalizados en otros tópicos; es decir, que el desarrollo de la virología en Uruguay es bastante reciente y aún incipiente. En este contexto es importante mencionar que el Laboratorio de Virología Molecular, ubicado en el noroeste del Uruguay en la ciudad de Salto, fue creado a propuesta del Dr. Rodney Colina (responsable académico del mismo) en el marco de los llamados a proyectos a “Radicalización de grupos de investigación en calidad de dedicación exclusiva en el interior del Uruguay” por parte de la Universidad de la República realizados durante el último quinquenio. La radicalización de investigadores en todas las áreas del conocimiento, equipamiento y construcción de nuevos laboratorios, creación de nuevas ofertas de enseñanza terciaria; han constituido sin lugar a dudas un hito de carácter histórico en cuanto al desarrollo y construcción de universidad pública en todo el territorio del Uruguay, en particular en un país muy altamente centralizado en su capital.

Nuestro laboratorio hoy en día está conformado por un grupo de nueve jóvenes investigadores que están realizando sus tesis de maestría o doctorado en el marco del

Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas” (PEDECIBA), del Uruguay. Dicho laboratorio es el único en realizar investigación en Virología en el interior del Uruguay o mejor dicho fuera de la capital del país.

Hemos desarrollado este laboratorio de investigación en esa zona del país debido a: 1) se encuentra ubicado en una región de gran importancia epidemiológica debido a la cercanía geográfica con Argentina y Brasil, lo que genera una constante alerta de ingreso de virus al país; 2) es a su vez una zona agropecuaria altamente productiva; 3) las condiciones climáticas subtropicales existentes; 4) la afluencia constante de turistas procedentes de distintos países debido a la existencia de varios complejos turísticos termales en la zona; 5) existe allí un importante desarrollo de la Universidad de la República, con más de 7.000 mil estudiantes de grado y más de 20 carreras funcionando; 6) apostar a sumar esfuerzos en la dirección de fortalecer la investigación y el desarrollo de la única universidad pública que tiene el Uruguay y que permite de forma gratuita formar a todos nuestros jóvenes a nivel terciario; en particular, llegar a aquellos jóvenes que por cuestiones sociales o económicas no pueden acceder a dicha formación.

Una de las principales líneas de investigación de nuestro grupo es estudiar el grado de diversidad genética y evolución de los principales virus gastroentéricos que afectan a nuestra población pediátrica y a la población en general, así como determinar el grado de contaminación viral y bacteriana de nuestros principales cursos de agua. Es nuestro objetivo generar datos y conocimientos de gran importancia para la salud pública.

En este contexto, a partir de mediados de 2011 hemos abordado dichas investigaciones dentro dos subcampos del conocimiento de la Virología: uno que tiene que ver con la epidemiología molecular y evolución viral partiendo de muestras clínicas de niños hospitalizados con cuadro clínico de GAI y otro que tiene que ver con el estudio y caracterización de los mismos virus pero a partir de muestras ambienta-

Positivos (%) / media de concentración (g.c./l)²

Ciudad	RVA ^b	NoV ^c	HAstV ^d
Bella Unión	11 (46) / 7.5x10 ⁵	8 (33) / 4.2x10 ⁵	10 (42) / 4.5x10 ⁴
Salto	13 (54) / 5.4x10 ⁶	9 (38) / 4.9x10 ⁵	15 (63) / 7.8x10 ⁵
Paysandú	14 (58) / 2.8x10 ⁶	15 (63) / 2.0x10 ⁶	7 (29) / 6.6x10 ⁵
Fray Bentos	9 (38) / 4.6x10 ⁶	17 (71) / 1.0x10 ⁶	11 (46) / 6.6x10 ⁵
Total	47 (49)	49 (51)	43 (45)

^ag.c./l: copias genómicas por litro; ^bRVA: rotavirus grupo A; ^cNoV: norovirus; ^dHAstV: astrovirus humanos.

TABLA 1.

Frecuencia y concentración de rotavirus grupo A, norovirus y astrovirus humano, respecto a los puntos de colecta a lo largo del río Uruguay.

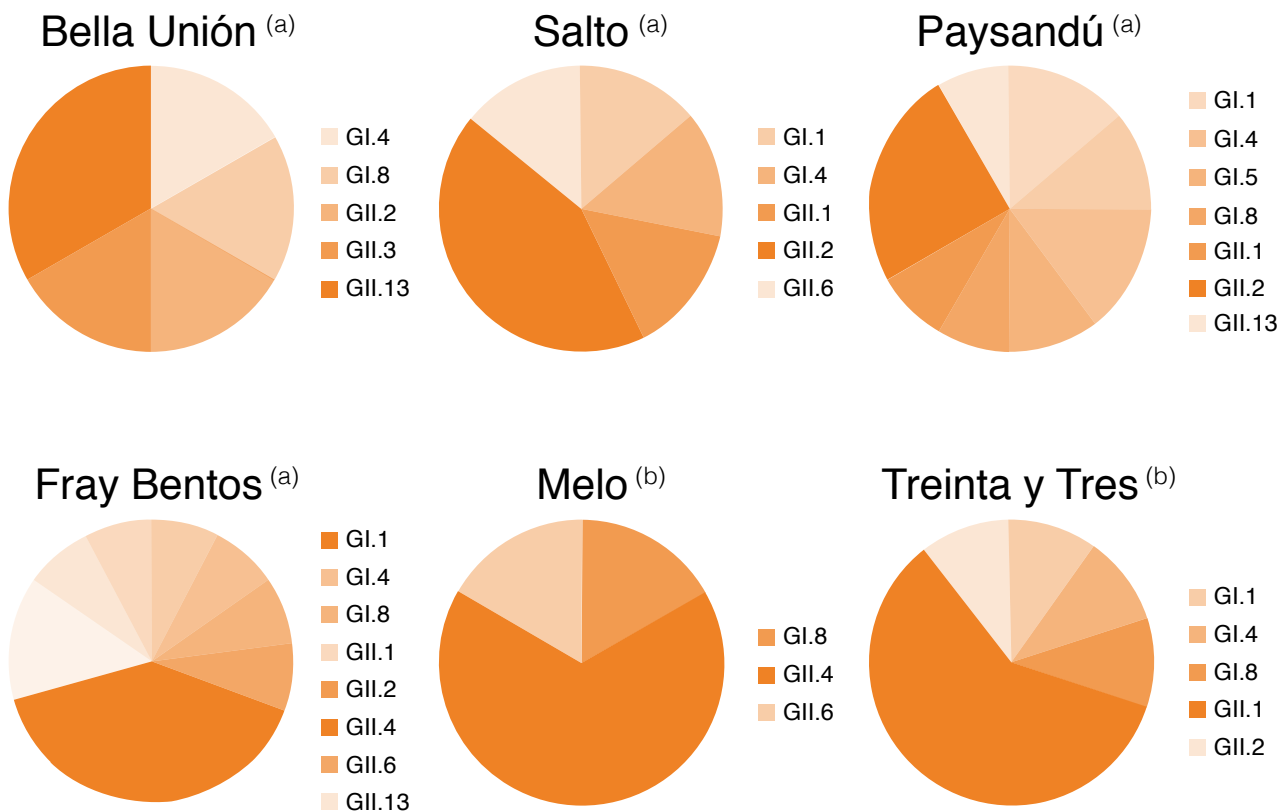


FIGURA 1

Distribución de genotipos de rotavirus GI y GII detectados de acuerdo con los sitios de colecta de agua residual en el noroeste (a: Bella Unión, Salto, Paysandú y Fray Bentos) y este (b: Melo y Treinta y Tres) del Uruguay.

>>> los procedentes de aguas residuales no tratadas que son directamente vertidas a los principales cursos de agua del Uruguay. En el caso del estudio de virus gastroentéricos mediante virología ambiental en Uruguay, es importante destacar que no había antecedentes previos al respecto. Estamos realizando importantes colaboraciones con el Laboratorio de Virología Comparada y Ambiental del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil; Catedra de Virología, Universidad de Buenos Aires, Argentina; Instituto Pasteur de París, Francia; Universidad de Roma “Tor Vergata”, Roma, Italia; así como con varias instituciones locales.

Estos abordajes nos han permitido generar un importante caudal de datos de gran valor científico, los cuales han sido y están siendo publicados por nuestro grupo en diversas revistas arbitradas indexadas internacionales y presentados en distintos eventos del área a nivel nacional e internacional (ver sección “Para leer más”).

A continuación nos referiremos a los principales resultados obtenidos en cuanto al estudio de los virus gastroentéricos que afectan la salud de nuestros niños, así como también demostrar la existencia de contaminación ambiental en los principales cursos de agua del país.

El objetivo de este estudio fue detectar y caracterizar molecularmente RVA, NVGI, NVGII y MAsV-1 a partir de muestras clínicas y ambientales colectadas en distintas

regiones geográficas del Uruguay. La colecta de muestras clínicas fue realizada en la ciudad de Salto mediante un estudio de epidemiología molecular de dos años de duración (2011-2012), totalizando 175 muestras. Las muestras ambientales, fueron aguas residuales colectadas en las regiones Noroeste y Este del país. Las muestras al Noroeste fueron recogidas de manera quincenal en cuatro ciudades desde marzo de 2011 a febrero de 2012, totalizando 96 muestras. Las muestras al Este, fueron recogidas de manera bimestral en dos ciudades desde setiembre de 2011 a abril de 2013, totalizando 20 muestras. Los virus presentes en las muestras ambientales fueron concentrados por ultracentrifugación y contaminados con el bacteriófago PP7 a modo de controlar todo el proceso. Las muestras clínicas y los concentrados de las muestras ambientales, fueron analizados mediante protocolos de RT-PCR globalmente utilizados. Luego se realizó la caracterización molecular a través de análisis filogenético de las secuencias genómicas obtenidas. Fue observada una prevalencia de 37% para RVA, 10,3% para MAsV-1 y 8% para NV, a partir de análisis de las muestras clínicas. Se pudo determinar la prevalencia de cada virus por edad y la estacionalidad de los mismos en dichas muestras. Se observó la presencia de genotipos comunes (G1P[8], G2P[4] y G3P[8]) y emergentes (G12P[8], G12P[9]) en humanos de RVA. Se

detectaron genotipos globalmente distribuidos de NVGII, con la importante detección de la cepa pandémica GII.4 New Orleans 2009, y la detección de la cepa recombinante GII.P7-GII.6. Fueron detectados los genotipos HAsV-1, -2 y -3 de MAsV-1 circulando en las muestras clínicas. Interesantemente, fue posible detectar y caracterizar molecularmente RVA y NV a partir de muestras de vómito. Por otro lado, la caracterización molecular de estos virus a partir de agua residual mostro: I) una mayor prevalencia de estos virus en estas aguas que en casos clínicos, (ver *tabla 1*) II) una mayor diversidad genética de cepas circulantes (ver *figura 1 y 2*), III) la circulación de cepas inusuales en humanos de RVA (G3P[3]), IV) la sustitución de una cepa pandémica de GII.4 por otra en el período de un año, siendo ambas introducciones asociadas a un aumento en

el número de infecciones en la población, y V) una correlación casi total entre las cepas observadas en las muestras clínicas y ambientales. Esto último, remarca la importancia de la investigación de virus entéricos a partir de aguas residuales como alternativa de vigilancia epidemiológica cuando no se tiene acceso a muestras clínicas de la población. Los datos generados en este estudio, representan los primeros que han sido obtenidos sobre estos tres virus en el país, y en particular en dos regiones geográficas diferentes de Uruguay, que son limítrofes con Argentina y Brasil. Por último, destacar que los resultados obtenidos remarcan la importancia de establecer una red de vigilancia a nivel nacional para estas virosis que afectan sobre todo a niños, debido a su amplia distribución en todo el territorio nacional. >>>

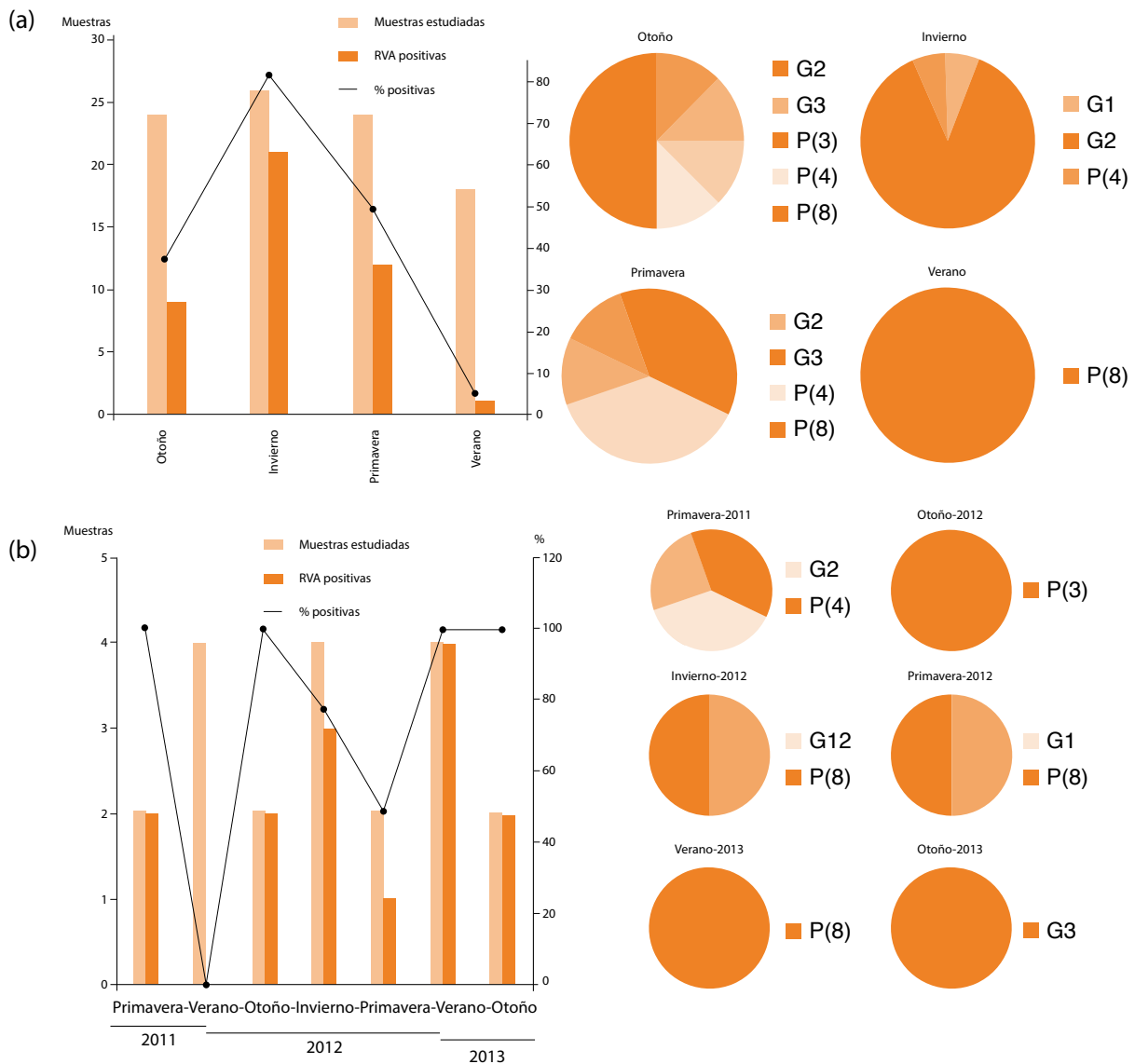


FIGURA 2 Tasas de detección y distribución de rotavirus (RVA) grupo A. Detección en las aguas residuales de las seis ciudades estudiadas situadas en la región, noroeste (a) y Este (b) de Uruguay, entre 2011 a 2013, de acuerdo con la temporada de colecta.

OTRAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (I+D) EN MARCHA EN EL LABORATORIO DE VIROLOGÍA MOLECULAR, SALTO:

1) Uruguay posee históricamente una elevada actividad agropecuaria en la cual la exportación de carne bovina constituye uno de los principales ingresos económicos. Recientemente hemos comenzado a estudiar virus similares a los humanos pero que causan gastroenteritis y/o problemas reproductivos en bovinos del Uruguay. Virus como rotavirus bovino, coronavirus bovino, norovirus bovino y diarrea viral bovina, han generado y generan gran preocupación a nivel nacional debido a las enormes pérdidas productivas y reproductivas que año a año ocurren en los rodeos del Uruguay. Hasta el momento no hay estudios científicos en profundidad sobre el grado de afectación y la diversidad viral existente a nivel nacional, lo que compleja aún más el problema. Debido a esto entendemos que es necesario investigar sobre dichos temas. Dichos estudios los estamos realizando con el Instituto Nacio-

VIRUS COMO ROTAVIRUS BOVINO, coronavirus bovino, norovirus bovino y diarrea viral bovina, han generado y generan una gran preocupación a nivel nacional debido básicamente a las enormes pérdidas productivas y reproductivas que año a año ocurren en los diferentes rodeos del Uruguay.

nal de Investigación Agropecuaria (INIA) y la Dirección de laboratorios veterinarios del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca del Uruguay.

El objetivo central es generar conocimiento epidemiológico de base que aporte a encontrar una solución a las pérdidas existentes mediante el aislamiento de cepas para ser utilizadas en una vacuna.

2) Uruguay exporta importantes volúmenes de cítricos a diferentes destinos en el mundo y la demanda es creciente cada año. Sin embargo, existen a nivel global distintos patógenos, algunos de origen viral, que afectan seriamente la producción cítrica. Estamos investigando activamente con INIA la prevalencia y caracterización molecular de virus y viroides en cítricos del Uruguay, debido que se estima que las pérdidas económicas causadas por los mismos son elevadas. En este contexto estamos caracterizando a nivel molecular y evolutivo, al virus de la *Tristeza de los Cítricos* y hemos descubierto la existencia de un nuevo genotipo viral que a su vez está circulando predominantemente en Argentina y Uruguay.

3) Hemos comenzado también el estudio de la diversidad de Enterovirus en el ambiente.

Este proyecto busca caracterizar la presencia de Enterovirus Humanos (EvH) en distintas matrices ambientales de Uru-

guay. En primer lugar se realizará una descripción profunda a nivel estacional de la diversidad ambiental de los EvH mediante la secuenciación masiva de muestras de agua residual no tratada, colectadas en diferentes ciudades del país. Luego, se estudiará el impacto en nuestro país del reemplazo de la vacuna oral antipoliomielítica (OPV) por la vacuna inactivada (IPV), implementada en 2012, en la circulación y diversidad genética de Poliovirus (PV) y Enterovirus No Polio (ENP) mediante el estudio de las variantes presentes en el agua residual durante la vacunación con OPV. También se analizará de manera comparativa la concentración y diversidad genética de PV y ENP presentes en aguas superficiales de dos ríos de gran importancia en el Uruguay, en un monitoreo mensual realizado durante un año. Por otro lado, se buscará describir el impacto de la afluencia de turistas en la concentración y diversidad genética de los EvH presentes en efluentes de piscinas de aguas termales de la ciudad de Salto, y se ensayará la viabilidad de dichas partículas virales para luego estimar mediante modelos matemáticos el riesgo de infección que existe para las personas que entran en contacto con dichas

aguas recreacionales. Finalmente, se reconstruirá la historia evolutiva de las variantes de EvH más significativas desde el punto de vista epidemiológico. Este proyecto hará una importante contribución a la epidemiología molecular de los EvH que circulan en Uruguay, y será una oportunidad para estandarizar metodologías y generar capacidad nacional para la vigilancia ambiental de los mismos, especialmente de PV, lo cual a pesar de las recomendaciones de OMS, aun no es realizado en nuestro país.

4) Se ha comenzado a construir el primer laboratorio BLS3 del Uruguay, del cual el Dr. Rodney

Colina ha sido proponente y es el responsable, en la sede Universitaria de la ciudad de Salto. El mismo estará disponible a fines de 2017 y constará de cuatro áreas de trabajo: 1) área de oficinas, para cuatro investigadores, 2) área de BSL2 con dos puestos de trabajo, 3) cuatro salas de biología molecular dentro del área BSL2 (extracción de ácidos nucleicos, Pre-PCR, Post-PCR, y área de preparación de mixes y reactivos) y 4) área de BSL3 de 40 metros cuadrados con dos puestos de trabajo. Dicho laboratorio tendrá como fin investigar todos aquellos virus (ej: Arbovirus, Rabia, etcétera) que presenten un riesgo para la población y que estén en las zonas fronterizas o que hayan ingresado al país. El objetivo final es generar, en el mediano plazo, un Instituto de Investigación en Virología de excelencia. ■

PARA LEER MÁS

Principales trabajos publicados por nuestro laboratorio en los últimos dos años:

1. Phylogenetic analyses of Norovirus strains detected in Uruguay reveal the circulation of the novel GII.P7/GII.6 recombinant variant. Fajardo Á, Tort FL, Victoria M, Fumian TM, Miagostovich MP, Leite JP, Cristina J, Colina R. *Infect Genet Evol.* 2014 Dec;28:328-32. doi: 10.1016/j.meegid.2014.10.026. Epub 2014 Nov 4. PMID: 25445648.

2. Environmental assessment reveals the presence of MLB-1 human astrovirus in Uruguay. Lizasoain A, Tort LF, García M, Gómez MM, Leite JP, Miagostovich MP, Cristina J, Colina R, Victoria M. *J Appl Microbiol*. 2015 Sep;119(3):859-67. doi: 10.1111/jam.12856. Epub 2015 Jul 8. PMID: 26010679.
3. Environmental Assessment of Classical Human Astrovirus in Uruguay. Lizasoain A, Tort LF, García M, Gómez MM, Cristina J, Leite JP, Miagostovich MP, Victoria M, Colina R. *Food Environ Virol*. 2015 Feb 14. PMID: 25680829.
4. Detection of Common, Emerging and Uncommon VP4, and VP7 Human Group A Rotavirus Genotypes from Urban Sewage Samples in Uruguay. Tort LF, Victoria M, Lizasoain A, García M, Berois M, Cristina J, Leite JP, Gómez MM, Miagostovich MP, Colina R. *Food Environ Virol*. 2015 Dec;7(4):342-53. doi: 10.1007/s12560-015-9213-5. Epub 2015 Aug 13. PMID: 26267835.
5. Molecular epidemiology of group A rotavirus among children admitted to hospital in Salto, Uruguay, 2011-2012: first detection of the emerging genotype G12. Tort LF, Victoria M, Lizasoain A, Castells M, Maya L, Gómez MM, Arreseigor E, López P, Cristina J, Leite JP, Colina R. *J Med Virol*. 2015 May;87(5):754-63. doi: 10.1002/jmv.24123. Epub 2015 Feb 3. PMID: 25650154.
6. Assessment of gastroenteric viruses from wastewater directly discharged into Uruguay River, Uruguay. Victoria M, Tort LF, García M, Lizasoain A, Maya L, Leite JP, Miagostovich MP, Cristina J, Colina R. *Food Environ Virol*. 2014 Jun;6(2):116-24. doi: 10.1007/s12560-014-9143-7. Epub 2014 Apr 29. PMID: 24777819.

OTROS ARTÍCULOS DEL GRUPO

1. Borrelia infection in Ixodes pararicinus ticks (Acari: Ixodidae) from northwestern Argentina. Nava S, Barbieri AM, Maya L, Colina R, Mangold AJ, Labruna MB, Venzal JM. *Acta Trop*. 2014 Nov;139:1-4. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.06.010. Epub 2014 Jun 28. PMID: 24979685.
2. Molecular diversity of bovine viral diarrhoea virus in Uruguay. Maya L, Puentes R, Reolón E, Acuña P, Riet F, Rivero R, Cristina J, Colina R. *Arch Virol*. 2015 Nov 23. PMID: 26597189.
3. Detection and Molecular Characterization of Aichivirus 1 in Wastewater Samples from Uruguay. Burutarán L, Lizasoain A, García M, Tort LF, Colina R, Victoria M. *Food Environ Virol*. 2015 Oct 11. PMID: 26456918.
4. Sewage surveillance reveals the presence of canine GVII norovirus and canine astrovirus in Uruguay. Lizasoain A, Tort LF, García M, Gómez MM, Leite JP, Miagostovich MP, Cristina J, Berois M, Colina R, Victoria M. *Arch Virol*. 2015 Nov;160(11):2839-43. doi: 10.1007/s00705-015-2571-3. Epub 2015 Aug 18. PMID: 26280526.
5. Phylogenetic Studies of the Three RNA Silencing Suppressor Genes of South American CTV Isolates Reveal the Circulation of a Novel Genetic Lineage. Benítez-Galeano MJ, Rubio L, Bertalmío A, Maeso D, Rivas F, Colina R. *Viruses*. 2015 Jul 22;7(7):4152-68. doi: 10.3390/v7072814. PMID: 26205407.
6. Epidemic history of major genotypes of hepatitis C virus in Uruguay. Castells M, Bello G, Ifrán S, Pereyra S, Boschi S, Uriarte R, Cristina J, Colina R. *Infect Genet Evol*. 2015 Jun;32:231-8. doi: 10.1016/j.meegid.2015.03.021. Epub 2015 Mar 20. PMID: 25801607.

Virus Respiratorio Sincicial: un desafío para la salud pública a nivel mundial

Claudia A. Rivera¹, Rodrigo A. Díaz¹, Pablo F. Céspedes¹, Alexis M. Kalergis^{1,2,3}

¹Millennium Institute on Immunology and Immunotherapy, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. ²INSERM U1064, Nantes, Francia. ³Departamento de Endocrinología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El virus respiratorio sincicial humano (VRSh) es la principal causa de infecciones respiratorias agudas del tracto respiratorio bajo a nivel mundial, afectando principalmente a niños menores a cinco años y adultos mayores de 65 años. Mundialmente, el VRSh genera enormes gastos en salud pública debido al elevado costo de la hospitalización y tratamiento de las infecciones agudas. Actualmente, el único tratamiento específico disponible consiste en un anticuerpo humanizado neutralizante cuyo uso es bastante restringido y debido a su alto costo, no se encuentra asequible a la población general. Finalmente, a pesar de que han transcurrido más de 50 años de investigación tras la identificación del VRSh, actualmente no existen vacunas aprobadas que permitan la profilaxis y control epidemiológico de las infecciones causadas por este importante patógeno respiratorio.

EL VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL Y SU IMPACTO EN SALUD PÚBLICA

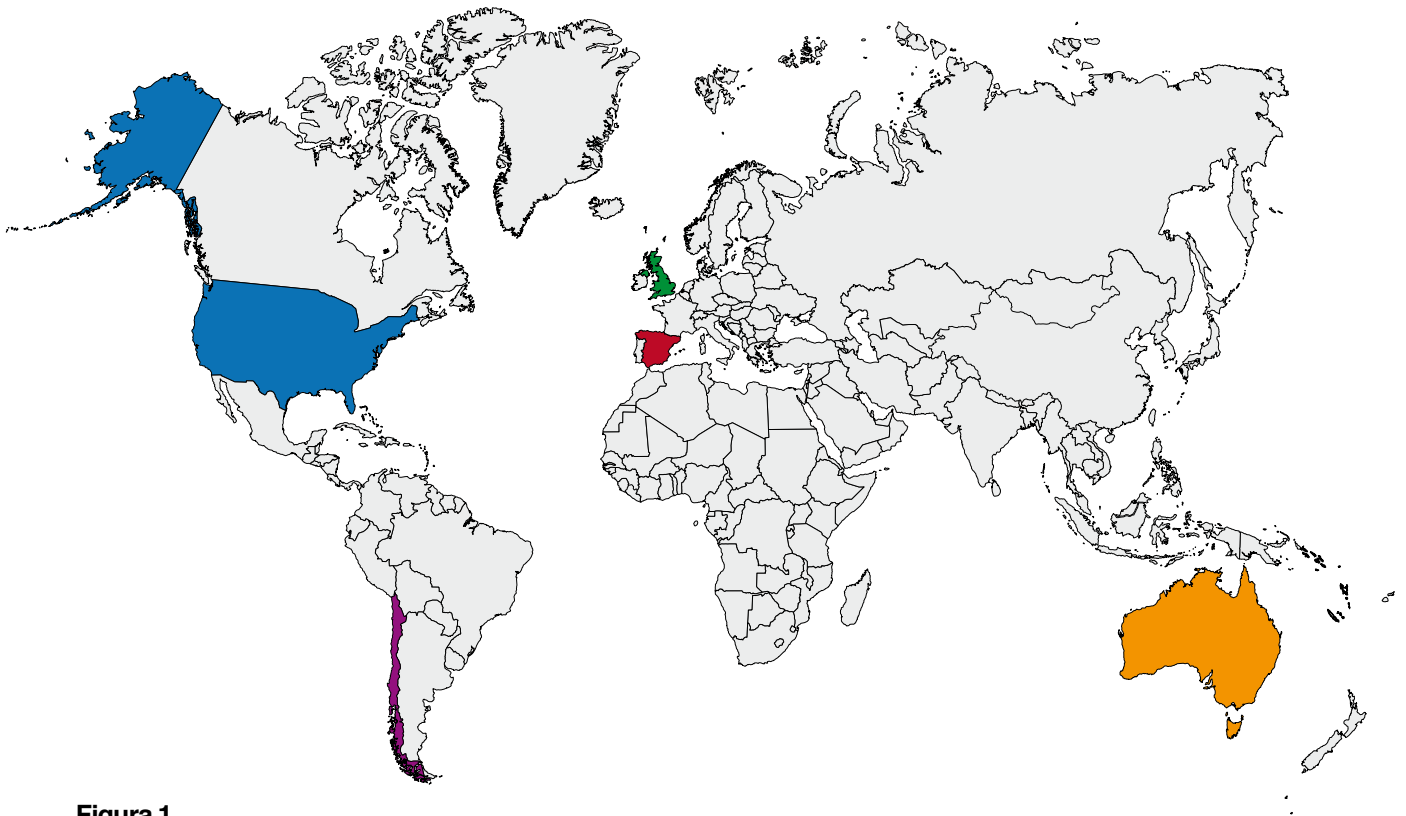
El virus respiratorio sincicial humano (VRSh) es el patógeno respiratorio causante de infecciones agudas del tracto respiratorio bajo más prevalente a nivel mundial, cuyo impacto se estima en aproximadamente 33,8 millones de infecciones en niños menores de cinco años y en la muerte de hasta 199.000 niños cada año alrededor del mundo¹. Aún más, se estima que el 70% de los niños menores de un año y cerca del 100% de los niños menores de dos años han sido infectados por este virus al menos en una oportunidad, presentando principalmente inflamación y obstrucción de las vías aéreas, lo que se refleja en síntomas como sibilancias, congestión nasal, rinoresaca, tos y, en los casos más severos, apnea y dificultades para respirar². En niños menores de dos años, individuos inmunocomprometidos y ancianos, el virus puede generar cuadros más graves como bronquiolitis y neumonía³. La población de adultos mayores de 65 años también se encuentra altamente afectada, por lo que informes de Estados Unidos y otros países han determinado que este patógeno respiratorio será cada vez más importante en países desarrollados⁴. Un estudio reciente en el Reino Unido estimó que las tasas de hospitalizaciones en este país atribuibles a VRSh en personas mayores de 65 años es 156/100.000 y

además que entre los casos de consultas de medicina general relacionadas a enfermedades respiratorias, hospitalizaciones y muertes debido a la infección causada por VRSh en adultos mayores de 18 años, un 36, 79 y 93 % respectivamente, ocurren en personas mayores de 65 años⁵. Finalmente, se ha estimado que desde el 2001 las consultas de medicina general relacionadas con enfermedades respiratorias, así como las hospitalizaciones y muertes debido a infecciones por VRSh fueron mayores que las causadas por influenza en esta misma población etaria⁵ (Figura 1). Por otro lado, estudios en Estados Unidos estiman que anualmente 11.000 adultos mayores mueren por enfermedades respiratorias agudas relacionadas a infecciones por VRSh en ese país, siendo los pacientes afec-

ACTUALMENTE, el único tratamiento específico disponible frente al virus respiratorio sincicial (VRS), la principal causa de infecciones respiratorias agudas a nivel mundial, consiste en un anticuerpo humanizado neutralizante cuyo uso es bastante restringido y, debido a su alto costo, no se encuentra asequible a la población general.

tados por enfermedades cardiopulmonares los que presentan una mayor prevalencia⁶. En la comunidad, las tasas anuales de infecciones por VRSh varían desde un 2 a 10% en adultos mayores⁶. Por otro lado, en ancianos que viven en residencias, la incidencia de infecciones por VRSh varía entre un 5 a 10%⁶ (Figura 1).

En niños hospitalizados por VRSh, entre 1 y 5 de un total de 10, requieren ventilación asistida, de los cuales más del 50% requiere terapia de oxígeno y cuya hospitalización se extiende por un promedio de 6 días⁷. En este mismo sentido, el promedio de días de hospitalización de niños menores de dos años debido a la infección con este virus varía desde cinco a ocho días en España, hasta 1,2 a 3,8 días en Estados Unidos y el Reino Unido⁷. Por otro lado, los costes asociados a la hospitalización por niño menor de cinco años en Estados Unidos alcanzan los 4.584 \$US mientras que los costes médicos de todos los casos de infección relacionada a VRSh en niños menores de cinco años se es- >>>

**Figura 1**

Impacto en salud pública del Virus Respiratorio Sincicial por país.

Estados Unidos

- 11,000 adultos mayores mueren por enfermedades respiratorias agudas relacionadas a infecciones por VRSh.
- 2-10% de adultos mayores que viven integrados en la sociedad y de un 5-10% de los adultos mayores que viven en residencias de ancianos se infectan por VRSh.
- 652 millones de dólares USA es el coste total de los gastos médicos asociados a infección por VRSh en niños entre 5 y un año de edad.
- 1,2-3,8 días de hospitalización promedio en niños menores de dos años por infecciones con VRSh.

ESPAÑA

- 156/100,000 adultos mayores de 65 años hospitalizados por causa de VRSh.
- 36% de las consultas de medicina general debido a infecciones por VRSh en adultos, corresponden a personas mayores de 65 años.
- 79% de las hospitalizaciones causadas por VRSh en adultos corresponden a personas mayores a 65 años.
- 93% de las muertes causadas por VRSh en adultos, corresponden a personas mayores de 65 años.
- Desde el 2001, en adultos mayores a 65 años las consultas de medicina general, hospitalizaciones y muertes debido a infecciones por VRSh fueron mayores que las causadas por influenza.
- 1-8 días de hospitalización es el promedio en niños menores de dos años por infecciones con VRSh.

Reino Unido

- 5-8 días de hospitalización promedio en niños menores de dos años por infecciones con VRSh.

AUSTRALIA

- Entre 24 a 50 millones dólares USA al año se estima el gasto total en salud relacionado con VRSh.
- VRSh es el virus detectado en mayor número de casos durante la década 1991-2000.
- Actualmente se reportan mensualmente más casos de VRSh que de influenza.

CHILE

- 6.758 casos de infecciones causadas por VRSh se detectaron durante 2014 en Chile, correspondiendo al agente viral más prevalente en este país.

estima en 652 \$US millones al año en este mismo país⁸ (Figura 1). En Australia, se estima que los gastos totales en salud relacionados a VRSh varían entre 24 a 50 millones anualmente \$US, correspondiendo al virus con mayor número de casos durante la década 1991-2000 en ese país, y aun actualmente se reportan mensualmente más casos de VRSh que los correspondientes a influenza⁹ (Figura 1). Por otro lado, en Chile se detectaron 6.758 casos de infecciones causadas por VRSh durante el 2014, correspondiendo al virus más prevalente en este país durante la época invernal (Fuente: <http://www.ispch.cl/listadoinformes-circulacionvirusrespiratorios2014>) (Figura 1).

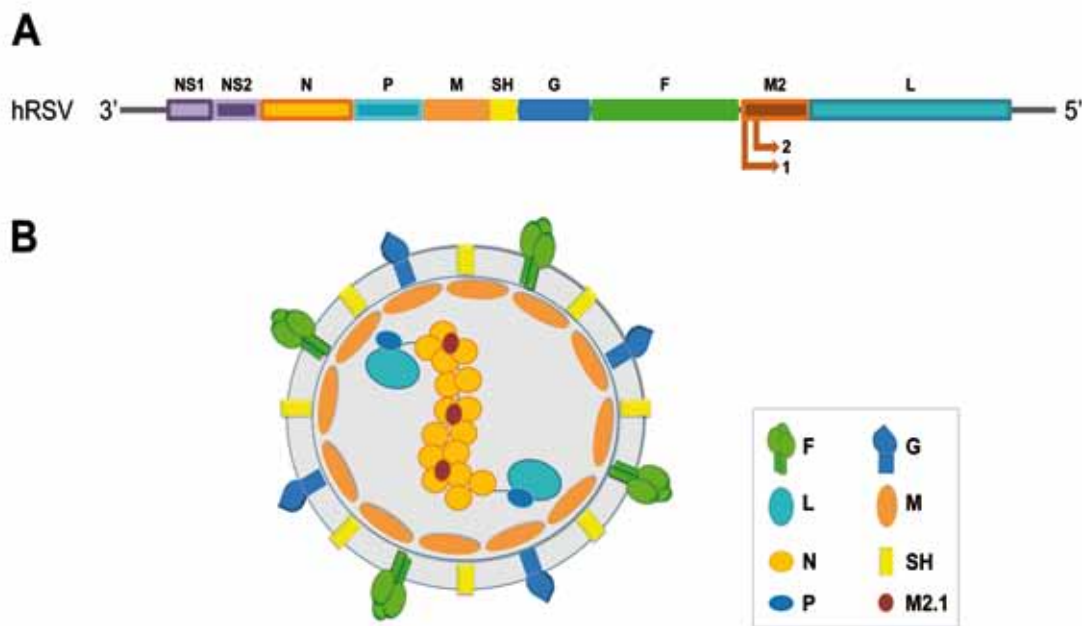


Figura 2

Genoma y estructura de una partícula del Virus Respiratorio Sincicial. **A** Genoma de VRSh de ARN de hebra simple de polaridad negativa que incluye 10 genes codificantes para 11 proteínas, incluyendo a las proteínas M2.1 y M2.2 que se originan a partir de la lectura alternativa del ARN mensajero. M2.2, NS1 y NS2 corresponden a proteínas no estructurales. **B** Estructura de la partícula viral que incluye 8 proteínas estructurales, 3 proteínas de superficie: la proteína de fusión (F), de anclaje (G) e hidrofóbica pequeña (SH), mientras que al interior de la partícula viral se encuentran la proteína de matriz (M), la nucleoproteína (N), la polimerasa de ARN ARN-dependiente (L), la proteína M2-1 y la fosfoproteína (P).

RESPUESTA INMUNE INDUCIDA POR EL VRSh

VRSh es un virus perteneciente a la familia Paramixoviridae, caracterizado por poseer una envoltura lipídica y encapsular un genoma de ARN con polaridad negativa que posee 10 genes codificantes para 11 proteínas³ (Figura 2). Dentro de las proteínas virales se encuentran tres glicoproteínas transmembrana: la proteína de fusión (F), la glicoproteína de anclaje (G) y la proteína hidrofóbica pequeña (SH)¹⁰. Además de las proteínas ya mencionadas, el virus posee otras cinco proteínas estructurales: la proteína de matriz (M) que participa del ensamblaje de la matriz viral, la nucleoproteína (N), la polimerasa de ARN ARN-dependiente (L), la proteína M2-1 y la fosfoproteína (P), que actúa como co-factor de L. La proteína M2-2 es traducida producto de la lectura alternativa del ARN mensajero de M2, luego de la terminación de la traducción de M2.1 y la reiniciación en un segundo marco de lectura abierta¹¹. M2-2 actúa como un factor de síntesis del RNA, regulando la transición entre transcripción y replicación viral^{13,12}. Finalmente, el VRSh posee dos proteínas no estructurales: NS1 y NS2, las que participan en la inhibición de la señalización y secreción de interferones de tipo I durante el proceso de infección del tejido epitelial (Figura 2).

La respuesta generada por el sistema inmune tras la infección por VRSh es débil en cuanto a la acción de células T y además provoca una gran secreción de moléculas pro inflamatorias (conocidas como citocinas), lo que finalmente causa una inflamación exacerbada de las vías aéreas¹³. Las células ciliadas

del epitelio pulmonar son el principal blanco del virus. En estas, la infección viral conduce a la síntesis y secreción de varias citocinas, incluyendo IL-6, IL-8/CXCL8, IL-10 y TNF- α ^{14,15}. A las moléculas indicadas anteriormente se suma a la acción del sistema del complemento que incluye a moléculas como C3a y C5a, dos potentes anafilotoxinas¹⁶. Estas moléculas promueven la inflamación del tejido respiratorio, que involucra el reclutamiento de células polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), los cuales potencian la patología generada por el virus, interfiriendo con su eliminación eficiente y aumentando el daño del parénquima pulmonar¹³ (Figura 3).

La respuesta inmune provocada por el VRSh se caracteriza por una respuesta mixta de tipo Th2 y Th17, siendo la primera la mejor caracterizada para este virus¹⁷. Por otro lado, este virus induce un aumento en la producción de anticuerpos de isotipo IgG1 e IgG3, los que exhiben propiedades neutralizantes limitadas frente a una reinfección y se asocian a un perfil Th2 de linfocitos T¹⁸ (Figura 3). Además la frecuencia de células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos contra VRSh se encuentra bastante disminuida en comparación a otros patógenos respiratorios como influenza¹⁹ y por otro lado, la frecuencia de mutaciones somáticas en genes de inmunoglobulinas en aquellas células B específicas en niños menores de tres meses de edad es mucho menor que en niños mayores, explicando en parte la alta tasa de infección en esta población²⁰. Además, la respuesta generada por >>>

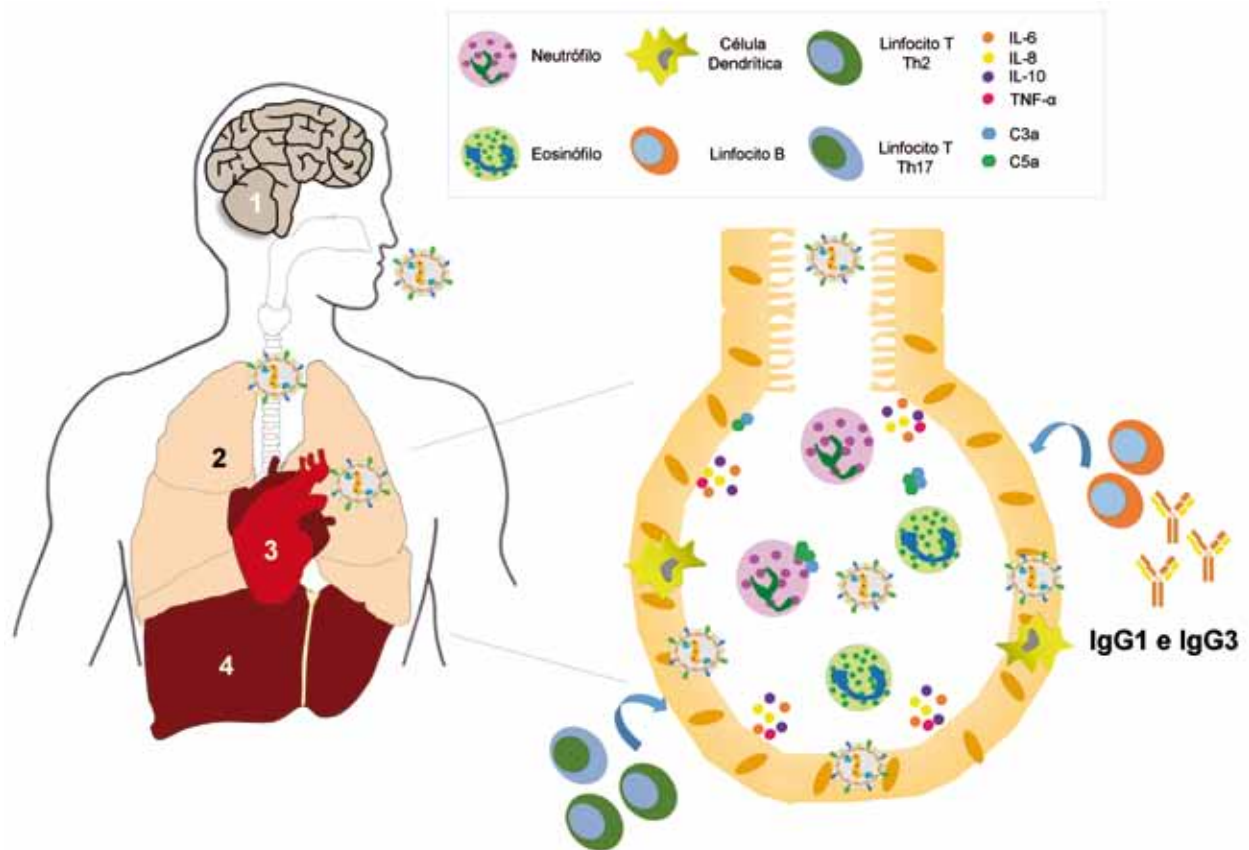


Figura 3.

Respuesta inmune en epitelio pulmonar y manifestaciones extrapulmonares causada por VRSh. 1 Este virus es capaz de infectar el sistema nervioso central, provocando alteraciones en el aprendizaje y memoria espacial y en cuadros severos, apnea, convulsiones, letargos, ataxia y encefalopatía. 2 VRSh genera principalmente síntomas como sibilancias, congestión nasal, rinorrea, tos, y en casos más severos apnea y dificultades para respirar. Este virus infecta principalmente las células epiteliales pulmonares, generando la secreción de citocinas proinflamatorias como IL-6, IL-8/CXCL8, IL-10 y TNF- α . Además se promueve el reclutamiento de neutrófilos y eosinófilos que potencian la patología generada por el virus, interfiriendo con su eliminación eficiente y aumentando el daño del parénquima pulmonar. A esto último también se suman el efecto de proteínas de complemento como C3a y C5a que promueven la inflamación del tejido pulmonar y la acción de linfocitos T CD4 de fenotipo Th2 y Th17. Linfocitos B secretadores de anticuerpos de isotipo IgG1 e IgG3 también se inducen por la infección con VRSh. Este virus también es capaz de provocar otras manifestaciones extrapulmonares como cardiopatías (3) y hepatitis (4).

el sistema inmune para contrarrestar la infección provocada por VRSh es deficiente y no genera memoria, por lo cual un mismo individuo puede reinfectarse en repetidas ocasiones a lo largo de su vida^{17,21}.

Otro tipo celular fundamental en la respuesta inmune adaptativa son las células dendríticas que, si bien no corresponden a células completamente permisivas para la infección por VRSh, igualmente son infectadas por el virus²². En este sentido, a pesar de que las células dendríticas presentan marcadores de maduración en su superficie en respuesta a VRSh como CD80, CD86 y MHC-II, estas no son capaces de activar de manera efectiva a las células T²³. Se ha demostrado que la pérdida de activación de las células T por parte de las células dendríticas no se debe a factores solubles secretados por esta última célula, sino más bien a la inhibición de la formación de la sinapsis inmunológica (SI) entre estas y células T vírgenes²³.

Debido a que la SI es una estructura molecular vital para la entrega de señales de activación a células T vírgenes, la supresión de su función reduce la diferenciación de estas últimas a células T de memoria²⁴. Recientemente, un estudio publicado por nuestro grupo ha demostrado que la nucleoproteína del VRSh se expresa en la superficie de las células dendríticas infectadas, impidiendo el adecuado ensamblaje de la SI²². Este último hallazgo sugiere que la inhibición de la SI mediada por VRSh podría ser un mecanismo central en la modulación negativa de la inmunidad adquirida del hospedero.

Recientemente se ha descrito que el VRSh es capaz de diseminarse desde las vías aéreas a otros tejidos y provocar manifestaciones extrapulmonares como cardiopatías y hepatitis, y además causar daños a nivel neurológico en pacientes con bronquiolitis más avanzada, generando cuadros de apnea, convulsiones, letargos, ataxia y encefalopatía (Figura 3)^{25,26}.

»» Además, estudios realizados en nuestro laboratorio en ratones BALB/cJ han mostrado que la infección por VRSh es capaz de migrar hacia el sistema nervioso central, lo que se refleja en la presencia de carga viral en el cerebro, y provocar alteraciones en el aprendizaje y memoria espacial en comparación con ratones no infectados (Figura 3)²⁷.

TERAPIAS ACTUALES CONTRA VRSH

La historia de la creación de terapias contra el virus respiratorio sincicial comienza unos pocos años luego de su identificación como agente etiológico de neumonía en infantes²⁸. De esta manera, en el año 1966 una vacuna basada en un virus inactivado por formalina (FI-VRSh) fue probada en ensayos clínicos causando la muerte de dos niños después de la infección natural por este patógeno²⁹. Esta inmunización causó una enfermedad pulmonar exacerbada caracterizada por una excesiva infiltración de eosinófilos en los niños, de los cuales un 80% requirió hospitalización²⁹. Tras más de cinco décadas de investigación, diversos estudios sugieren que la vacunación con FI-VRSh produce la acumulación en los pulmones de complejos inmunes compuestos por IgG y partículas o antígenos virales³⁰. Esta vacuna induce además la secreción de anticuerpos de baja avidéz y con pobre capacidad neutralizante³¹ y provoca la polarización de la respuesta inmune hacia un perfil Th1/Th2 desbalanceado que no es capaz de inducir la generación de células T CD8+ de memoria específicas contra el virus³².

Actualmente, el único tratamiento específico aprobado desde 1998 para tratar infecciones por VRSh, consiste en un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido hacia la proteína F del virus capaz de neutralizar la infección viral³³. Dicho anticuerpo, conocido como Palivizumab, es capaz de reducir en un 55% las hospitalizaciones en comparación al placebo³⁴. Sin embargo, recomendaciones recientes de Estados Unidos limitan el uso de este anticuerpo a niños prematuros nacidos antes de las 29 semanas de gestación. Antes de la trigésima segunda semana, solo se recomienda en infantes con enfermedades pulmonares crónicas y en niños menores de un año, solo en casos que presenten enfermedades cardíacas hemodinámicamente significativas. Además, no lo recomiendan en niños mayores a un año³⁵. Por otro lado, Ribavirina es otro tratamiento aprobado contra casos de alto riesgo de enfermedad asociada a VRSh, que actúa como un antiviral no específico inhibiendo la replicación viral. Este fármaco ha mostrado resultados favorables tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*; sin embargo, estudios de eficacia en humanos se encuentran inconclusos y presentan problemas de coste/eficacia y posibles efectos adversos que requieren ser analizados en profundidad^{36,37}. A pesar de una gran cantidad de esfuerzos realizados en este campo, aún no se dispone de una vacuna efectiva y asequible para la población en general. Numerosos intentos han mostrado resultados favorables en el desarrollo de prototipos de vacunas basadas en virus atenuados, como rA2cp248/404/1030ΔSH. Esta cepa, comprende cinco elementos genéticos independientes de atenuación y ha mostrado en adultos y niños seropositivos altos niveles de atenuación, así como un efecto protector consistente tras una

segunda dosis, como lo evidencia una replicación altamente restringida³⁸. MEDI-559, un virus atenuado derivado del anterior, mostró ser inmunogénico y atenuado; sin embargo niños inmunizados mostraron un aumento en las enfermedades respiratorias al tracto respiratorio bajo que requerían hospitalización, lo que generó cuestionamientos en torno a su seguridad^{39,40}.

Otras aproximaciones de vacunas contra VRSh se basan principalmente en las glicoproteínas de membrana F y G del virus, tal como un prototipo de vacuna basada en nanopartículas de F-VRSh. Este prototipo de vacuna es producida en células Sf9 de insecto mediante tecnología baculoviral recombinante y ha mostrado ser segura e inducir la generación de anticuerpos neutralizantes contra el virus, capaces de conferir protección en estudios preclínicos y de fase I. Actualmente se está evaluando en estudios de fase II en mujeres embarazadas y adultos mayores de 60 años para probar su efectividad^{41,42}. Otros estudios en modelos murinos incluyen la conjugación de versiones truncadas o solubles de la proteína F, conjugada a agonistas de receptores tipo Toll 4 y 3 respectivamente. Estas formulaciones han mostrado ser capaces de inducir respuestas celulares tipo Th1 y la secreción de anticuerpos neutralizantes contra VRSh⁴³⁻⁴⁵. Además, un virus de la influenza recombinante que incluye hemaglutininas fusionadas a un dominio conservado de la proteína G, demostró ser protector frente a un desafío con el virus e inducir la producción de anticuerpos específicos contra la proteína G-VRSh; sin embargo, este prototipo de vacuna no fue capaz de inducir respuestas de células T específicas contra el virus⁴⁶. Finalmente, también se han desarrollado múltiples estrategias basadas en partículas pseudovíricas (*Virus-like particles*) de las proteínas F y G del virus que también han mostrado eficiencia de protección contra la infección por este virus en modelos murinos⁴⁷⁻⁴⁹, y virosomas conjugados a ligandos de receptores tipo Toll 2 y 4, los que promovieron una respuesta humoral Th1/Th2 balanceada y una respuesta celular tipo Th1 capaz de contrarrestar la enfermedad causada por este patógeno respiratorio^{50,51}.

Tomando en consideración que VRSh induce un perfil Th2 tipo alérgico, se ha postulado ampliamente que la inducción de un perfil antiviral tipo Th1 podría contrarrestar el efecto causado por este virus. En este sentido, el desarrollo de un recombinante de *Mycobacterium bovis* cepa Bacillus Calmette-Guérin (BCG) que expresa la proteína N de VRS, ha mostrado resultados favorables contra el desafío de este virus^{27,52,53}. La inmunización con BCG-N ha mostrado inducir una respuesta celular eficiente basada en linfocitos T CD4 y CD8 productores de IFN- γ capaces de proteger frente a una infección viral, lo que se evidencia en una menor pérdida de peso, disminución en el infiltrado de neutrófilos en lavado bronqueoalveolares y en la carga viral en los pulmones^{52,53}. Esta vacuna recombinante también mostró ser capaz de disminuir significativamente la carga viral en cerebro y de prevenir las alteraciones cognitivas provocadas por una infección con este patógeno respiratorio²⁷, por lo que este prototipo de vacuna es capaz de otorgar protección completa contra infecciones con este virus, convirtiéndose en un candidato muy promisorio para proteger contra la patología causada por VRSh.

CONCLUSIONES FINALES

El avance en el entendimiento de VRSh, sus mecanismos de evasión de la respuesta inmune y la patogénesis de la enfermedad pulmonar en modelos animales ha permitido el desarrollo de numerosos prototipos de vacunas y terapias para el tratamiento de las infecciones por VRSh, de los cuales sólo palivizumab se encuentra actualmente aprobado como terapia específica contra el virus. Además, el estudio epidemiológico de VRSh ha permitido exhibir el impacto socioeconómico y en salud pública que causa este virus, así como enfatizar en el hecho de que, a pesar de muchos años de estudio, aún no se dispone de un tratamiento efectivo de bajo coste y accesible a toda la comunidad que prevenga las infecciones por VRSh en niños y personas de la tercera edad. Dentro de las características biológicas de VRSh, los mecanismos de evasión de la respuesta inmune que posee el virus han dificultado enormemente el desarrollo de una vacuna eficaz. La reciente identificación del efecto deletéreo de la nucleoproteína viral sobre la inhibición de la activación y expansión de células T CD4+, nos ha permitido sugerir que el desarrollo de una inmunidad celular específica contra esta proteína nos permitiría inducir una inmunidad celular protectora en niños recién nacidos. En este sentido, la promoción de una potente respuesta celular inducida por el prototipo de vacuna BCG-N en modelos animales, sugiere que la inmunización con esta recombinante podría constituir un importante candidato de vacuna que otorgue protección contra este patógeno. Finalmente, se necesita una alternativa a palivizumab que sea de bajo coste para mitigar el gran gasto económico y las complicaciones médicas que desarrollan los bebés, niños, ancianos e individuos inmunocomprometidos infectados por VRSh, a fin de conferir protección no sólo frente a las manifestaciones pulmonares de la infección, sino también frente a complicaciones extrapulmonares y posibles secuelas neurológicas provocadas por este virus.

BIBLIOGRAFÍA

- Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2010 May 1;375(9725):1545-55.
- Eiland LS. Respiratory syncytial virus: diagnosis, treatment and prevention. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT: the official journal of PPAG* 2009 Apr;14(2):75-85.
- Collins PL, Melero JA. Progress in understanding and controlling respiratory syncytial virus: still crazy after all these years. *Virus Research* 2011 Dec;162(1-2):80-99.
- Lee N, Lui GC, Wong KT, Li TC, Tse EC, Chan JY, et al. High morbidity and mortality in adults hospitalized for respiratory syncytial virus infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2013 Oct;57(8):1069-77.
- Fleming DM, Taylor RJ, Lustig RL, Schuck-Paim C, et al. Modelling estimates of the burden of Respiratory Syncytial virus infection in adults and the elderly in the United Kingdom. *BMC infectious diseases* 2015;15:443.
- Branche AR, Falsey AR. Respiratory syncytial virus infection in older adults: an under-recognized problem. *Drugs & Aging* 2015 Apr;32(4):261-9.
- Diez-Domingo J, Perez-Yarza EG, Melero JA, Sanchez-Luna M, Aguilar MD, Blasco AJ, et al. Social, economic, and health impact of the respiratory syncytial virus: a systematic search. *BMC Infect Dis* 2014;14:544.
- Paramore LC, Ciuryla V, Ciesla G, Liu L. Economic impact of respiratory syncytial virus-related illness in the US: an analysis of national databases. *Pharmacoeconomics* 2004;22(5):275-84.
- Ranmuthugala G, Brown L, Lidbury BA. Respiratory syncytial virus -the unrecognised cause of health and economic burden among young children in Australia. *Communicable diseases intelligence quarterly report* 2011 Jun;35(2):177-84.
- Batonick M, Wertz GW. Requirements for human respiratory syncytial virus glycoproteins in assembly and egress from infected cells. *Adv in Virol* 2011 May 16;2011.
- Ahmadian G, Randhawa JS, Easton AJ. Expression of the ORF-2 protein of the human respiratory syncytial virus M2 gene is initiated by a ribosomal termination-dependent reinitiation mechanism. *The EMBO Journal* 2000 Jun 1;19(11):2681-9.
- Bermingham A, Collins PL. The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 Sep 28;96(20):11259-64.
- Lotz MT, Peebles RS, Jr. Mechanisms of respiratory syncytial virus modulation of airway immune responses. *Current allergy and asthma reports* 2012 Oct;12(5):380-7.
- Lay MK, Bueno SM, Galvez N, et al. New insights on the viral and host factors contributing to the airway pathogenesis caused by the respiratory syncytial virus. *Crit Rev Microb* 2015 Jun 29:1-13.
- Lay MK, Gonzalez PA, Leon MA, Cespedes PF, Bueno SM, Riedel CA, et al. Advances in understanding respiratory syncytial virus infection in airway epithelial cells and consequential effects on the immune response. *Microbes and infection / Institut Pasteur* 2013 Mar;15(3):230-42.
- Sacks SH. Complement fragments C3a and C5a: the salt and pepper of the immune response. *Eur J Immunol* 2010 Mar;40(3):668-70.
- Bohmwald K, Espinoza JA, Becerra D, Rivera K, Lay MK, Bueno SM, et al. Inflammatory damage on respiratory and nervous systems due to hRSV infection. *Curr Opin Microbiol* 2015 May 27;36:14-21.
- Freitas GR, Silva DA, Yokosawa J, Paula NT, et al. Antibody response and avidity of respiratory syncytial virus-specific total IgG, IgG1, and IgG3 in young children. *J Med Immunol* 2011 Oct;83(10):1826-33.
- Singleton R, Etchart N, Hou S, Hyland L. Inability to evoke a long-lasting protective immune response to respiratory syncytial virus infection in mice correlates with ineffective nasal antibody responses. *J Virol* 2003 Nov;77(21):11303-11.
- Williams JV, Weitkamp JH, Blum DL, LaFleur BJ, Crowe JE, Jr. The human neonatal B cell response to respiratory syncytial virus uses a biased antibody variable gene repertoire that lacks somatic mutations. *Mol Immunol* 2009 Dec;47(2-3):407-14.
- Gonzalez PA, Bueno SM, Carreno LJ, et al. Respiratory syncytial virus infection and immunity. *Rev Med Virol* 2012 Jul;22(4):230-44.
- Cespedes PF, Bueno SM, Ramirez BA, et al. Surface expression of the hRSV nucleoprotein impairs immunological synapse formation with T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014 Aug 5;111(31):E3214-23.
- Gonzalez PA, Prado CE, Leiva ED, Carreno LJ, Bueno SM, Riedel CA, et al. Respiratory syncytial virus impairs T cell activation by preventing synapse assembly with dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 Sep 30;105(39):14999-5004.
- Gerard A, Khan O, Beemiller P, Oswald E, Hu J, Matloubian M, et al.

- Secondary T cell-T cell synaptic interactions drive the differentiation of protective CD8+ T cells. *Nat Immunol* 2013 Apr;14(4):356-63.
25. Morichi S, Kawashima H, Ioi H, Yamanaka G, Kashiwagi Y, Hoshika A, et al. Classification of acute encephalopathy in respiratory syncytial virus infection. *J Infect Chemother* 2011 Dec;17(6):776-81.
 26. Bohmwald K, Espinoza JA, Gonzalez PA, Bueno SM, Riedel CA, Kalergis AM. Central nervous system alterations caused by infection with the human respiratory syncytial virus. *Rev Med Virol* 2014 Nov;24(6):407-19.
 27. Espinoza JA, Bohmwald K, Cespedes PF, et al. Impaired learning resulting from respiratory syncytial virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 May 28;110(22):9112-7.
 28. Chanock R, Finberg L. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. *Am J Hyg* 1957 Nov;66(3):291-300.
 29. Kim HW, Canchola JG, Brandt CD, et al. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *Am J Epidemiol* 1969 Apr;89(4):422-34.
 30. Polack FP, Teng MN, Collins PL, Prince GA, Exner M, Regele H, et al. A role for immune complexes in enhanced respiratory syncytial virus disease. *J Exp Med* 2002 Sep 16;196(6):859-65.
 31. Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, Melendi GA, Hernandez JZ, Batalle JP, et al. Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. *Nat Med* 2009 Jan;15(1):34-41.
 32. Knudson CJ, Hartwig SM, Meyerholz DK, Varga SM. RSV vaccine-enhanced disease is orchestrated by the combined actions of distinct CD4 T cell subsets. *PLoS pathogens* 2015 Mar;11(3):e1004757.
 33. American Academy of Pediatrics 1998 annual meeting. San Francisco, California, USA. October 16-21, 1998. Abstracts. *Pediatrics* 1998 Sep;102(3 Pt 2):671-878.
 34. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. The IMPact-RSV Study Group. *Pediatrics* 1998 Sep;102(3 Pt 1):531-7.
 35. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious D, American Academy of Pediatrics Bronchiolitis Guidelines C. Updated guidance for palivizumab prophylaxis among infants and young children at increased risk of hospitalization for respiratory syncytial virus infection. *Pediatrics* 2014 Aug;134(2):415-20.
 36. Law BJ, Wang EE, MacDonald N, McDonald J, Dobson S, Boucher F, et al. Does ribavirin impact on the hospital course of children with respiratory syncytial virus (RSV) infection? An analysis using the pediatric investigators collaborative network on infections in Canada (PICNIC) RSV database. *Pediatrics* 1997 Mar;99(3):E7.
 37. Ventre K, Randolph A. WITHDRAWN: Ribavirin for respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract in infants and young children. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010(5):CD000181.
 38. Karron RA, Wright PF, Belshe RB, Thumar B, Casey R, Newman F, et al. Identification of a recombinant live attenuated respiratory syncytial virus vaccine candidate that is highly attenuated in infants. *J Infect Dis* 2005 Apr 1;191(7):1093-104.
 39. Malkin E, Yogev R, Abughali N, Sliman J, Wang CK, Zuo F, et al. Safety and immunogenicity of a live attenuated RSV vaccine in healthy RSV-seronegative children 5 to 24 months of age. *PLoS one* 2013;8(10):e77104.
 40. Schickli JH, Kaur J, Tang RS. Nonclinical phenotypic and genotypic analyses of a Phase 1 pediatric respiratory syncytial virus vaccine candidate MEDI-559 (rA2cp248/404/1030DeltaSH) at permissive and non-permissive temperatures. *Virus Res* 2012 Oct;169(1):38-47.
 41. Raghunandan R, Lu H, Zhou B, Xabier MG, et al. An insect cell derived respiratory syncytial virus (RSV) F nanoparticle vaccine induces antigenic site II antibodies and protects against RSV challenge in cotton rats by active and passive immunization. *Vaccine* 2014 Nov 12;32(48):6485-92.
 42. Smith G, Raghunandan R, Wu Y, Liu Y, Massare M, Nathan M, et al. Respiratory syncytial virus fusion glycoprotein expressed in insect cells form protein nanoparticles that induce protective immunity in cotton rats. *PLoS one* 2012;7(11):e50852.
 43. Garg R, Latimer L, Gerdtts V, Potter A, van Drunen Littel-van den Hurk S. Vaccination with the RSV fusion protein formulated with a combination adjuvant induces long-lasting protective immunity. *J Gen Virol* 2014 May;95(Pt 5):1043-54.
 44. Garg R, Latimer L, Simko E, Gerdtts V, Potter A, van den Hurk S. Induction of mucosal immunity and protection by intranasal immunization with a respiratory syncytial virus subunit vaccine formulation. *J Gen Virol* 2014 Feb;95(Pt 2):301-6.
 45. Lambert SL, Aslam S, Stillman E, MacPhail M, Nelson C, Ro B, et al. A novel respiratory syncytial virus (RSV) F subunit vaccine adjuvanted with GLA-SE elicits robust protective TH1-type humoral and cellular immunity in rodent models. *PLoS one* 2015;10(3):e0119509.
 46. Lee YN, Hwang HS, Kim MC, Lee YT, Cho MK, Kwon YM, et al. Recombinant influenza virus carrying the conserved domain of respiratory syncytial virus (RSV) G protein confers protection against RSV without inflammatory disease. *Virology* 2015 Feb;476:217-25.
 47. Lee S, Quan FS, Kwon Y, Sakamoto K, Kang SM, Compans RW, et al. Additive protection induced by mixed virus-like particles presenting respiratory syncytial virus fusion or attachment glycoproteins. *Antivir Res* 2014 Nov;111:129-35.
 48. McGinnes LW, Gravel KA, Finberg RW, Kurt-Jones EA, Massare MJ, Smith G, et al. Assembly and immunological properties of Newcastle disease virus-like particles containing the respiratory syncytial virus F and G proteins. *J Virol* 2011 Jan;85(1):366-77.
 49. Schmidt MR, McGinnes LW, Kenward SA, Willems KN, Woodland RT, Morrison TG. Long-term and memory immune responses in mice against Newcastle disease virus-like particles containing respiratory syncytial virus glycoprotein ectodomains. *J Virol* 2012 Nov;86(21):11654-62.
 50. Shafique M, Meijerhof T, Wilschut J, de Haan A. Evaluation of an intranasal virosomal vaccine against respiratory syncytial virus in mice: effect of TLR2 and NOD2 ligands on induction of systemic and mucosal immune responses. *PLoS one* 2013;8(4):e61287.
 51. Kamphuis T, Meijerhof T, Stegmann T, et al. Immunogenicity and protective capacity of a virosomal respiratory syncytial virus vaccine adjuvanted with monophosphoryl lipid A in mice. *PLoS one* 2012;7(5):e36812.
 52. Bueno SM, Gonzalez PA, Cautivo KM, Mora JE, Leiva ED, Tobar HE, et al. Protective T cell immunity against respiratory syncytial virus is efficiently induced by recombinant BCG. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 Dec 30;105(52):20822-7.
 53. Cautivo KM, Bueno SM, Cortes CM, Wozniak A, Riedel CA, Kalergis AM. Efficient lung recruitment of respiratory syncytial virus-specific Th1 cells induced by recombinant bacillus Calmette-Guerin promotes virus clearance and protects from infection. *J Immunol* 2010 Dec 15;185(12):7633-45.

Joan Guinovart

Presidente de la International Union
of Biochemistry and Molecular Biology

“Las grandes sociedades científicas deben repensarse continuamente”

El atril de Joan Guinovart admite múltiples miradas. A su labor al frente de un navío de la excelencia científica española, el Instituto de Investigación Biomédica de Barcelona (IRB), une una voz crítica y constructiva con el sistema de política científica, al que pondría en constante revisión. Desde mediados de 2015, preside la *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB), organización que agrupa 77 instituciones alrededor del mundo. La promoción del talento y la educación de las ciencias moleculares de la vida son sus prioridades.

Xavier Pujol Gebelli

¿Qué ánimo inspira su nuevo cometido?

La organización que presido desde agosto de 2015 desarrolla un amplísimo paquete de actividades que gozan de prestigio y tradición. Desde congresos y conferencias científicas a becas y ayudas para jóvenes investigadores pasando por la publicación de revistas científicas de impacto. Nada de eso debe quedarse en el tintero.

O sea, ¿que nada va a cambiar?

La IUBMB es la gran organización mundial formada por 77 instituciones de otros tantos países dedicadas a la promoción y el desarrollo de la bioquímica y la biología molecular. O, lo que es lo mismo, las ciencias moleculares de la vida. Se relaciona, por tanto, con todo lo que atañe a una visión moderna de la biomedicina del futuro. Eso no puede ni debe cambiar, aunque sí debe evolucionar.

>>>

¿En qué sentido?

»» Cuando se fundó la IUBMB, en 1955, ni la ciencia ni tampoco las condiciones geopolíticas tenían que ver con las actuales. En su origen, la IUBMB fue el gran paraguas de las grandes reuniones científicas de un área, la biomédica, que empezaba a sentar las bases del futuro. El conocimiento adquirido y la tecnología disponible hoy en día multiplica por mucho el existente entonces. Por otro lado, el clima de Guerra Fría imperante ofrecía a los congresos y reuniones de la Unión una de las pocas puertas abiertas al intercambio científico entre Este y

El objetivo es concentrar las iniciativas de la IUBMB en puntos estratégicos con el mayor impacto posible para la comunidad científica de las áreas más alejadas de los grandes circuitos científicos.

Oeste. Hoy manda la globalización y nuestros congresos han perdido la trascendencia de antaño.

Los congresos, ciertamente, hace años que cambiaron de filosofía.

Exactamente, pero eso no significa que no sean un lugar en el que se dan interacciones importantes entre científicos. En nuestro caso, son también una oportunidad para científicos de países menos desarrollados para pasar revista a los temas más actuales, tener una visión más global de cómo está su área y contactar con personalidades con las que de otra forma difícilmente podrían.

¿Qué grandes líneas marcarán su mandato?

El objetivo es concentrar las iniciativas de la IUBMB en puntos estratégicos con el mayor impacto posible para la comunidad científica de las áreas más alejadas de los grandes circuitos científicos.

Ha declarado que la educación va a ser una de sus líneas prioritarias.

En el ánimo de la IUBMB está la organización de una gran conferencia de educación bajo la dirección de Bruce Alberts, antiguo presidente de la *National Academy of Sciences* y probablemente el mayor impulsor de nuevas metodologías para la enseñanza de las ciencias. La bioquímica y la biología celular se ha convertido en el lenguaje común de las disciplinas que conforman las ciencias de la vida y duplica el volumen de conocimientos relevantes cada cinco años. Hay que revisar cómo se enseña para que sea mucho más atractiva.

¿Ahora no lo es?

En la mayoría de los casos nos limitamos a hinchar el temario con las nuevas aportaciones. Eso nos resta visión y explica en parte la falta de vocaciones científicas. La ciencia no es el resultado de una revelación sino el resultado de una experimentación, algo que hay que introducir en una enseñanza basada cada vez más en la experiencia.

¿El modelo actual está agotado?

En parte, así es. En los últimos años hemos asistido a una auténtica revolución en conocimiento y tecnología y la enseñanza de la bioquímica no debe quedarse al margen.

Un modelo de interés sociológico

Joan Guinovart se siente especialmente complacido por el hecho de haber logrado la segunda acreditación Severo Ochoa a la excelencia para el centro que dirige. Ello no quita, sin embargo, que se muestre sorprendido por la escasa atención que el IRB y otros centros públicos han recibido de los medios de comunicación. Guinovart lo achaca a la "indiferencia" con la que habitualmente el gobierno "de turno" obsequia a la ciencia española. "Es un mal que llevamos arrastrando desde hace décadas", resume. Sus años al frente de la SEBBM, primero,

y de la COSCE, después, así lo atestiguan. Es indiscutible que se ha avanzado, conviene, pero también que la falta de atención suficiente puede estancar

LAS ACREDITACIONES SEVERO OCHOA SON CENTROS ALTAMENTE COMPETITIVOS, FUERTEMENTE INTERNACIONALIZADOS Y CON GRAN CAPACIDAD DE GESTIÓN AUTÓNOMA.

un sistema que se ha visto forzado a reducir su velocidad debido a la crisis económica. "Las acreditaciones Severo Ochoa conforman una suerte de experimento sociológico del que el Gobierno espa-

ñol debería tomar nota", añade. En su conjunto, razona, se trata de centros altamente competitivos, fuertemente internacionalizados, con capacidad de gestión autónoma, flexibilidad en su área económica y posibilidad de acudir al mercado para contratar investigadores en función de sus intereses científicos.

"Si todos los centros con éxito internacional tenemos este mínimo común denominador", expone, "¿por qué no extender estas características al resto del sistema?". "Parece que nadie se lo ha mirado con suficiente atención para considerarlo así", responde.



¿Deben reescribirse los libros de texto?

Exactamente, y sobre todo la enseñanza. Tenemos la oportunidad de sentar las bases de nuevos métodos basados en la experiencia, los tópicos imprescindibles y actualizar contenidos.

Su segunda línea prioritaria son las escuelas de la IUBMB.

Entiendo que debe ser una de las grandes líneas estratégicas de la IUBMB. De ahí nuestro interés por potenciar nuestras escuelas como las que se están celebrando en Sudáfrica, Sudamérica, Sudeste Asiático o China, que se dirigen esencialmente a investigadores de sus respectivas áreas de influencia geográfica.

¿También hay que darles un nuevo aire?

Hoy por hoy, difícilmente la IUBMB puede competir con las grandes series de reuniones internacionales. Ni con los grandes congresos científicos generalistas ni con los más especializados y de acceso restringido. Pero sí podemos competir es en áreas muy específicas, en particular aquellas que se dirigen a los más jóvenes.

¿Cómo?

Las escuelas representan una oportunidad única para zonas excluidas de los grandes circuitos científicos

internacionales para que los jóvenes tengan la oportunidad de interactuar con investigadores de prestigio internacional.

Parece como si la IUBMB hubiera cambiado de foco.

Ahora mismo ya no tiene sentido favorecer las relaciones Este-Oeste como durante la Guerra Fría. Pero sí lo tiene, y mucho, facilitar la interacción Norte-Sur, el intercambio entre regiones donde la ciencia está plenamente desarrollada y aquellas donde no hay apenas sistema de ciencia y tecnología.

De ahí que el número de instituciones adscritas a la IUBMB no deje de crecer.

Así es, estamos impulsando la creación de nuevas sociedades de bioquímica y biología molecular o equivalentes en todo el mundo y su integración en la comunidad científica internacional. Es una manera de contribuir a la modernización de sus estructuras científicas y, al mismo tiempo, también del propio país. Algunos de los congresos y reuniones científicas se van a celebrar justamente en estos países menos favorecidos con la idea de generar un impacto positivo en su sociedad.

Actuar de motor, por tanto.

Hemos constatado que en aquellos países donde se celebra un congreso internacional inmediatamente se despierta un cierto interés político, incluso gubernamental, por la actividad. No es extraño que ministros o incluso jefes de estado apoyen públicamente el congreso.

¿En esa línea se inscribe el gran congreso científico en ciernes de la IUBMB?

En efecto. Se celebrará en Lisboa en 2021. La capital lusa es de los pocos lugares del mundo con un vínculo histórico de relación con todos los continentes. En su organización van a participar todas las grandes sociedades regionales, esto es América, Europa, Asia, África y Oceanía. ■

En continua evolución

Si en algo se distingue la carrera profesional de Joan Guinovart, además de por sus logros científicos, es por su reconocida capacidad de gestión. En la actualidad dirige el Instituto de Investigación Biomédica (IRB) de Barcelona, entidad que acaba de celebrar su décimo aniversario con la renovación de la acreditación Severo Ochoa de excelencia científica.

Del IRB, Guinovart destaca una "característica especial" por ser uno de los pocos centros en Europa donde "convi-

ven" la química, la biología y el estudio de estructura en su vertiente biomédica. Esta mezcla otorga al centro una visión global de la biomedicina,

"EL IRB ES UNO DE LOS POCOS CENTROS EN EUROPA DONDE "CONVIVEN" LA QUÍMICA, LA BIOLOGÍA Y EL ESTUDIO DE ESTRUCTURA EN SU VERTIENTE BIOMÉDICA"

además de "muy farmacéutica". La principal misión de sus distintas áreas es identificar las bases moleculares de una enfermedad, lo cual implica dar

con las proteínas que son causales y, eventualmente, las moléculas que pueden modificar su acción. Guinovart lo define como "la raíz de la Farmacia".

Esa raíz se completa con la recién añadida unidad de transferencia, por lo que globalmente el IRB contemplaría desde la identificación de los mecanismos de una enfermedad hasta el descubrimiento de fármacos. Otra cosa muy distinta sería la explotación de resultados, algo a lo que no se renuncia. La colaboración con el sector privado es ya frecuente para el centro.



UNA REVOLUCIÓN LLAMADA CRISPR

Sirve para todo, es barata, rápida y de fácil uso. Tanto que está al alcance de cualquier laboratorio de genética, sea médico, académico o industrial. Mientras se anuncia una inminente revolución, la técnica crece en aplicaciones y se extiende por el mundo como una mancha de aceite. Las alarmas éticas ya han saltado y en círculos económicos se especula abiertamente sobre las consecuencias de un cambio propiciado por la eficaz edición de genomas. La revolución se llama CRISPR.

Xavier Pujol Gebelli

Si *Microsoft Word* es hoy por hoy el editor de textos universal, *CRISPR/Cas9* promete ser el gran editor de genomas, desde los más simples de origen vírico o bacteriano, hasta los más complejos como el humano. Ambos editores, salvando las distancias, comparten su facilidad de uso, su aplicabilidad universal y un coste razonablemente económico, lo que sin duda es clave para su expansión. Y como ocurre con casi todo, ambos tienen sus respectivos antecedentes. Diversos editores de texto probaron fortuna antes de la irrupción de uno de los productos estrella de la factoría de Bill Gates. Y este no se detuvo con el lanzamiento, sino que periódicamente introduce nuevas versiones y mejoras.

Poco más o menos, es lo mismo con CRISPR. Existían y existen otros editores de genomas, aunque más caros, menos fiables y más laboriosos. Y de esta técnica, descubrimiento del año para *Science* en 2015, se esperan en el futuro nuevas y más asequibles versiones. Pero a diferencia del popular *Word*, su trascendencia es infinitamente mayor: está destinada a la manipulación genética dada su capacidad de cortar-pegar genes con enorme precisión.

La llegada de CRISPR, aunque no es nueva, se consolida en este pasado 2015 gracias a tres trabajos que exponen su enorme potencial: la manipulación del genoma del mosquito *Anopheles*, causante de la malaria; la eliminación de genes que limitaban el xenotrasplante de órganos de cerdo a humanos; y la manipulación de un embrión humano. Son tres exponentes de las múltiples puertas sobre la modificación genética que se abrían en 2000 con la publicación del primer borrador del genoma humano. Tras ellas, sueños científicos de todo tipo, una más que previsible explosión de empresas biotecnológicas y una exigible regulación internacional con marcado acento bioético. Aunque todo sea posible, no todo debiera estar permitido, clama una proporción cada vez mayor de la comunidad científica.

«TRABAJANDO PRIMERO EN CULTIVOS CELULARES Y POSTERIORMENTE CON MODELOS ANIMALES, BÁSICAMENTE RATÓN, ZHANG Y OTROS PIONEROS HABÍAN HALLADO LA FÓRMULA PARA REVERTIR IN VITRO CARACTERES DE ANEMIA FALCIFORME, FIBROSIS QUÍSTICA Y DISTROFIA MUSCULAR»

fue en 2012 que las publicaciones en revistas de impacto empezaron a relatar de forma creciente las bondades de CRISPR, relata Heidi Ledford en *Nature*, quien no duda en establecer un claro paralelismo con la eclosión de la PCR, técnica que condujo a un salto cualitativo en Ciencias de la Vida a partir de mediados de los 80 del siglo pasado, cuando fue descubierta.

El impacto, sin embargo, se prevé mucho mayor, por cuanto de la innovadora técnica se espera que los investigadores puedan usarla para “ajustar genes humanos” con la finalidad de eliminar enfermedades, crear vegetales mucho más resistentes a las condiciones ambientales o reforzar el sistema inmunológico para combatir una variedad mayor de patógenos, entre otras muchísimas aplicaciones. La innovación, que ha reducido los costes del experimento en un 300% respecto de otras técnicas, se explica con al menos media docena de nombres propios, aunque

tan solo dos han alcanzado gran notoriedad mundial. Son Jennifer Doudna, de la Universidad de California en Berkeley, y Emmanuelle Charpentier, actualmente en el Instituto Max Planck de Biología de la Infección, en Berlín. A ellas se debe el perfeccionamiento de una técnica que se basa en la capacidad de las bacterias para reconocer virus patógenos a partir de su material genético, un mecanismo que sugiere algo así como un sistema inmunológico bacteriano.

El sistema parte de dos componentes básicos. De un lado, un fragmento de ARN que actúa a modo de guía para identificar el segmento de ADN que se quiere editar; del otro, un enzima (el más frecuente es Cas9) que lo corta con la precisión de un bisturí. El sistema emula así al de origen bacteriano.

Feng Zhang, investigador del *Broad Institute* de Harvard y del MIT, es el tercer nombre. A este joven y precoz bioingeniero se debe el origen de TALE, el precursor inmediato de CRISPR, al tiempo que un claro competidor de otra técnica: los dedos de zinc. Cuando Zhang empieza a trabajar con CRISPR como región genética palindrómica (se lee igual en ambas direcciones de escritura) ya había sido descrita pero se desconocía tanto su significado biológico como, por supuesto, su potencial como herramienta. Su mérito fundamental fue dar con

UNA PARA TODOS

Aunque no es hasta 2015 que la técnica eclosiona y se populariza en los laboratorios biomédicos de todo el mundo,

LA TECNOLOGÍA CRISPR muestra a todo el mundo su verdadera dimensión. Y lo hace en forma de trabajos publicados que llaman poderosamente la atención.

el enzima Cas9 y decidir, que es la que en realidad actúa como un certero bisturí, tras haber partido la técnica en sus dos componentes.

Trabajando primero en cultivos celulares y posteriormente con modelos animales, básicamente ratón, Zhang y otros pioneros habían hallado la fórmula para revertir in vitro caracteres de anemia falciforme, fibrosis quística y distrofia muscular. A esos primerísimos trabajos se añadiría pronto una investigación innovadora en sida y distintos trabajos en genética vegetal. También algunas formas de cáncer merecieron la atención de los investigadores.

Pese a los trabajos pioneros de Zhang, fueron Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier, las primeras en demostrar y publicar que CRISPR podía editar ADN purificado. Su trabajo se publicó en junio de 2012 y justo en enero de 2013 Zhang y George Church, profesor de la *Harvard Medical School*, publicaban que CRISPR se podía usar para editar células humanas. La guerra por la patente se había declarado. Aún no está resuelta.

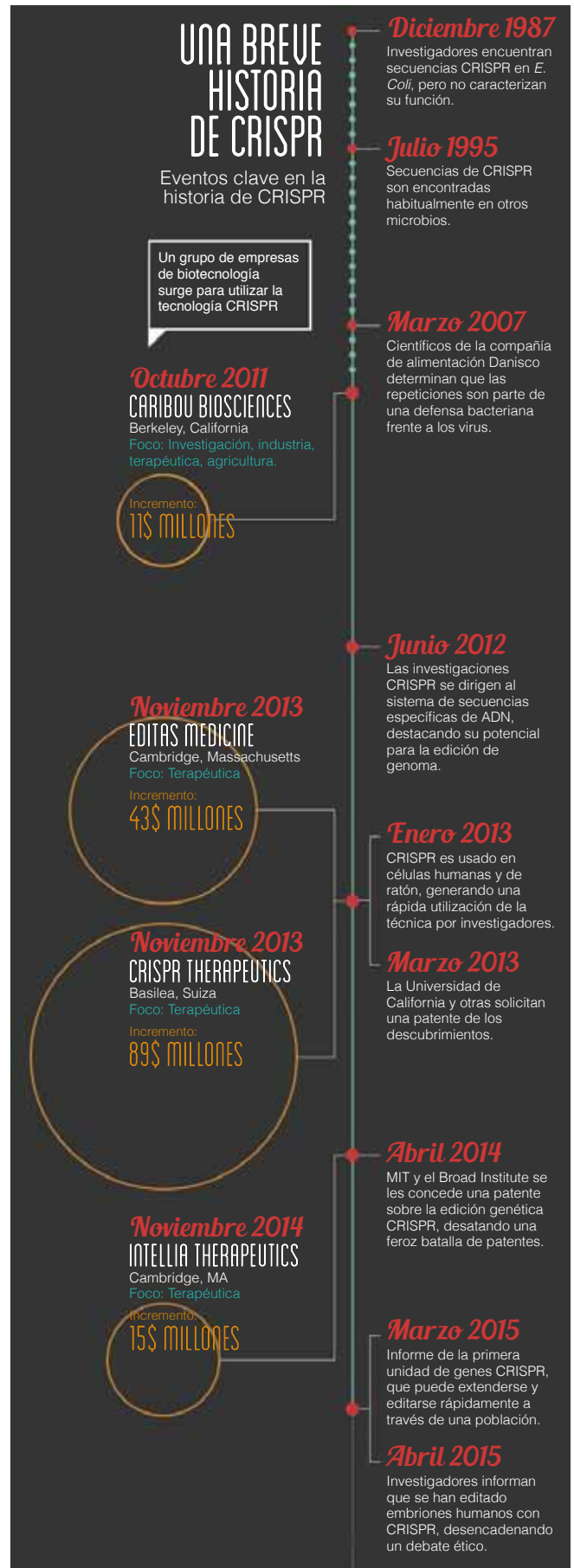
Entre otras razones porque otros investigadores podrían reclamarla. Entre ellos, científicos del Instituto de Investigación de Enfermedades Microbianas de Osaka, en Japón, quienes en 1987 describieron la presencia de secuencias palindrómicas sin saber cual era su significado biológico.

El misterio permaneció inalterado hasta 2005. Francisco Mojica, microbiólogo de la Universidad de Alicante, fue el primero en determinar cómo esas secuencias desconocidas podían hallarse en el ADN de un gran número de organismos y que parecían ser de origen vírico, lo que sugería algo parecido a un recordatorio para activar el sistema inmune.

Un par de años más tarde, en 2007, microbiólogos de Danisco, empresa alimentaria danesa, habían observado secuencias CRISPR en bacterias para la producción industrial de yogur. El círculo se iba cerrando a la espera de los logros de Zhang, Church, Doudna y Charpentier.

HITOS PARA UN NOBEL

Tras el revuelo alcanzado en 2012, es a lo largo de 2015 que la tecnología CRISPR muestra a todo el mundo su verdadera dimensión. Y lo hace en forma de trabajos publicados que llaman poderosamente la atención. Este es el caso de un mosquito modificado genéticamente para impedir la transmisión de la malaria. Dado que las modificaciones genéticas pueden insertarse en las líneas germinales y pueden transmitirse de generación en generación, como describieron científicos de la Universidad de California en Irvine, cabe la posibilidad de liberar al medio insectos modificados. De su apareamiento con individuos salvajes saldría una generación de mosquitos >>>



EL TRABAJO NO SOLO no pasó desapercibido por haber vulnerado un acuerdo internacional. También destacó por la demostración de concepto, trabajar con células humanas, y plantear abiertamente la posibilidad de modificar genéticamente embriones...

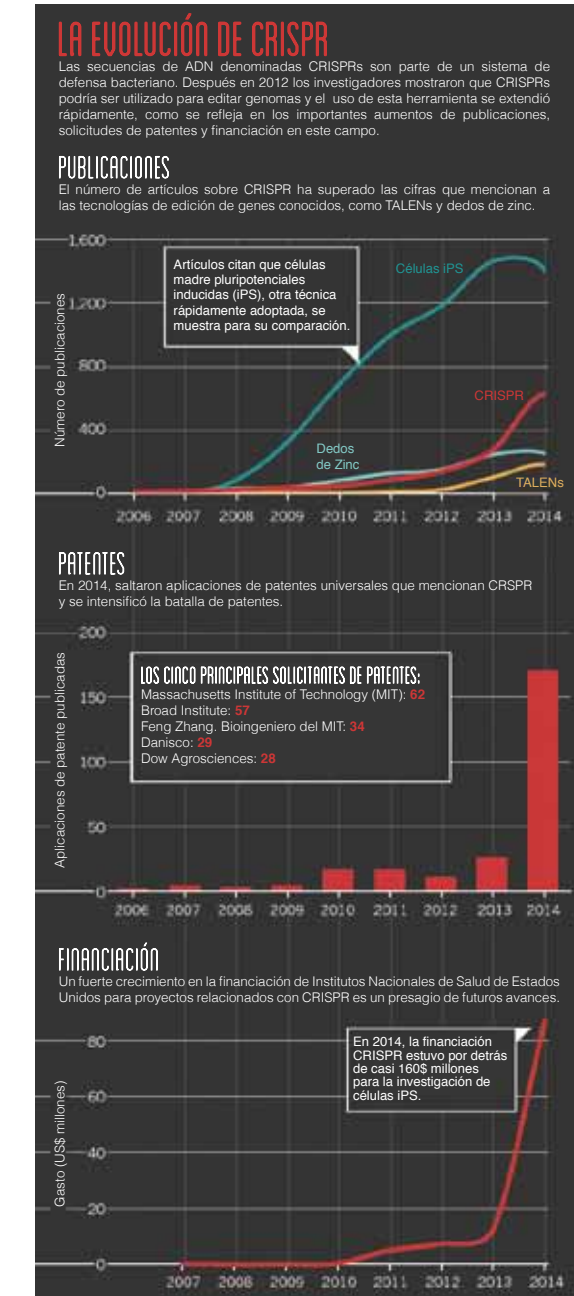
incapaces de transmitir la malaria. Quedaría por ver si los cambios introducidos queda fijados en el genoma de las sucesivas generaciones.

Un segundo trabajo destacado es el relativo a mejoras en órganos de cerdo destinados a trasplante en humanos, lo que se conoce habitualmente como xenotrasplante. Estos órganos suelen fracasar cuando se emplean como injertos debido a un fenómeno de rechazo agudo provocado en buena medida por la presencia de retrovirus. Un equipo de la *Medicine School* de Harvard publicó en 2015 la eliminación de hasta 62 retrovirus en órganos de cerdo, lo que acerca esta técnica a una nueva realidad experimental. En el futuro se vislumbra la disponibilidad de órganos animales para trasplante.

Un tercero, que es el que abre la puerta a un polémico debate por sus implicaciones éticas y económicas, procede de China con réplica en el Reino Unido. Pese al acuerdo tácito de no manipular genéticamente embriones humanos, un laboratorio chino abrió la caja de pandora en 2015 para validar la tecnología CRISPR en un embrión claramente inviable. El equipo de investigadores asiáticos obtuvo éxito en su investigación, corregir un gen defectuoso. El trabajo no solo no pasó desapercibido por haber vulnerado un acuerdo internacional. También destacó por la demostración de concepto, trabajar con células humanas, y plantear abiertamente la posibilidad de modificar genéticamente embriones con el fin de intervenir sobre enfermedades monogénicas. La mayoría de ellas engrosan la larga lista de enfermedades raras, unas cinco mil registradas. Reino Unido, junto con Estados Unidos y China, encabezan un debate en el que priman los intereses éticos y económicos.

Las claves del debate

Más allá de si la tecnología CRISPR puede dar o no motivos para una patente, acreditada como está la existencia de una paternidad múltiple, el interés se centra en sus aplicaciones biotecnológicas. Al amparo de una técnica que crece exponencialmente en usos, como así queda reflejado en las publicaciones científicas que citan su participación, iniciativas empresariales de todo tipo están viendo la luz estos tres últimos años. Aplicaciones médicas basadas en el diagnóstico, el diseño de fármacos o distintas variantes de la terapia génica, comandan el grueso del pelotón. Pero hay más: la industria agroalimentaria también ha entrado en juego, bien sea para mejorar la producción de cosechas, bien para aumentar su lista particular de nuevos alimentos. Para un futuro nada descabellado queda la posibilidad de una profunda transformación del sector de los transgénicos con fines alimentarios, sean vegetales o animales.



OLIVER SACKS

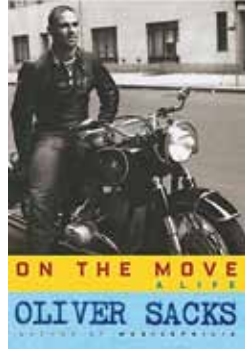
Un científico con muchas aficiones

“La vida hay que vivirla hacia delante, pero sólo se puede comprender hacia atrás”. Esta frase de Kierkegaard inicia la autobiografía de Oliver Sacks (1933-2015). Obra que es un cuidadoso ejercicio para que comprendamos la vida de una persona, si no excepcional, al menos poco común. Inclasificable. Lo habitual era etiquetarlo de neurólogo y/o escritor, pero Sacks era muchas más cosas y, por encima de todo, un ser con una curiosidad extraordinaria: sólo la curiosidad puede justificar como se implicó en todo lo que hizo, desde luego la neurología, pero también la botánica, la fotografía, la música, las motos, la natación y sorprendentemente la halterofilia.

Sacks recorre su vida desde que siendo niño va a un internado durante la segunda guerra mundial, hasta que cumple 75 años, y aunque el libro es en cierto modo un ejercicio de introspección, parece escrito para compartir todo lo que disfrutó de la vida. El relato, incluso los capítulos en que describe sus vivencias como afectado por el melanoma ocular que acabaría con su vida, es un permanente canto a la libertad y destila la vitalidad que debió caracterizarlo siempre. Cuando tenía 12 años su maestro escribió en un informe: “Sacks llegará lejos, si no va demasiado lejos” (p. 16). Debíó vivir muy deprisa para tener tiempo de hacer todo lo que hizo, otra persona hubiera necesitado varias vidas.

A lo largo de 12 capítulos son constantes las referencias a la medicina, en especial a su personal concepción de la práctica clínica y a la familia, pero sobre todo Sacks se manifiesta como escritor y habla de su relación con la escritura y del placer que le produce escribir. En las páginas iniciales explica cómo a pesar de sus poco brillantes notas en anatomía consiguió ganar un importante premio anatómico porque “se me dan mal los exámenes de datos... pero a la hora de desarrollar un tema puedo desplegar mis alas” (p. 28).

Las primeras 150 páginas son una descripción apresurada de su infancia y juventud: el internado durante la guerra, sus dudas sobre estudiar medicina (era hijo y hermano de médicos) o química, su paso por Oxford, su pasión por las motos, su afición al deporte y su decisión de emigrar



On the move. A life

Oliver Sacks
Alfred A. Knopf,
New York (2015).
Traducción al español de
Damià Alou. Anagrama,
Barcelona (2015), 446 p.

a Estados Unidos. Allí al final de la década de los 50 y principios de los 60 encuentra una sólida formación como médico en una sociedad tolerante que le permite “ser de día el simpático Dr. Sacks que por la noche cambia la bata blanca por un traje de cuero de motorista y anónimo, como un lobo, pisa el acelerador por la carretera iluminada por la luna...” (p. 91).

Las motos fueron parte importante de su vida. Entre la 94 y la 109 está el relato “Travel Happy (1961)”, uno de los diarios que envió al poeta Tom Gunn durante un largo viaje en moto programado para recorrer 12.000 km una vez conseguido el permiso de trabajo y tomada la decisión de convertirse en ciudadano estadounidense. El detalle con que describe las motos, el paisaje, las personas y las circunstancias deja constancia de su habilidad para observar y contar lo observado. En esta época se aficionó a la halterofilia y llegó a ser recordman de California en la modalidad de sentadillas en 1961. También entonces inició el contacto con las drogas. Describe experiencias con LSD y anfetaminas, de las que llegó a ser adicto.

A lo largo de toda la obra describe pacientes, experimentos, reflexiones y habla de sus libros. Unos reflejan vivencias propias como “Tío Tungsteno”, “Alucinaciones”, “Migraña” o “Con una sola pierna”; otros, describen de forma minuciosa casos clí-

nicos, en especial “Despertares” y “El Hombre que confundió a su mujer con un sombrero”. En todos hay historias clínicas que muestran su forma de entender la medicina que el propio Sacks explica en el prólogo de “El hombre que confundió a su mujer con un sombrero”: “Mi trabajo, mi vida, giran en torno a los enfermos... pero el enfermo y su enfermedad me hacen pensar cosas que de otro modo no pensaría...”. Hay una recurrencia a “Despertares” (al que dedica un capítulo) y sobre todo a los pacientes supervivientes de la epidemia de encefalitis letárgica que trató en el Hospital Beth Abraham y con los que estableció una relación especial. El tratamiento con L-dopa que Sacks inició en estos pacientes fue una novedad absoluta como evidencian sus publicaciones en *The Lancet*, *British Medical Journal* o *JAMA* a principios de los años 70.

Otra cuestión es la relación con su familia, con su madre, a la que admiraba; con su padre cuyo ejercicio como médico de familia alaba y con sus hermanos, en especial con Michael que padeció esquizofrenia y del que habla a veces como paciente. Aunque no practicante, el judaísmo y la influencia de la religión en su vida aparece muchas veces. En las primeras páginas cuenta cómo a los 18 años informó a sus padres de su homosexualidad y la brutal reacción inicial de su madre. No escatima detalles sobre sus relaciones amorosas y sobre su castidad voluntaria a lo largo de 35 años hasta que se enamoró del escritor Billy Hayes (p. 427) con el que compartió sus últimos años y al que dedica el libro. El libro incluye 58 fotografías que ayudan a entender la vida de Sacks. Además aparecen su familia, sus pacientes y sus aficiones, en especial las motos (una de ellas ilustra la portada del libro) y el mar.

Al final (p. 432) dice: “Para bien o para mal, soy un narrador”. Además refleja los cambios de la sociedad a lo largo de la segunda mitad del siglo XX. Es un canto a la vida y a la libertad y su lectura hace, como le pasaba a Sacks con lo que decían sus pacientes, pensar en muchas cosas más que en la vida de un hombre clasificado.

Francisco J. Morales-Olivas
Instituto Médico Valenciano

LLÁMALO BOLONIA, O LLÁMALO SENTIDO COMÚN E IMAGINACIÓN

Incorporemos al aprendizaje la exploración y el método científico.

Ángel Herráez

ESTIMADOS BIOQUÍMICOS:

En esta ocasión os presento dos propuestas de actividades que podéis intentar con vuestros alumnos. Se trata de ideas que a priori pueden parecer ingenuas, pero creo que pueden aportar a los estudiantes un aprendizaje significativo, si sabemos darles la orientación correcta.

La inspiración es introducir un concepto de manera informal, generando así motivación en el alumno, y estimularle a pensar y no a seguir a ciegas una doctrina. En el segundo ejemplo, además, se pretende que comprenda las etapas, estrategia, razonamiento, que constituyen o acompañan al método científico.

APROXIMACIÓN INTUITIVA AL CONCEPTO DE ESTEREOISOMERÍA EN LOS AMINOÁCIDOS

El planteamiento de esta actividad pretende que los alumnos, más que aprender –e incluso entender– que existen D- y L-aminoácidos a partir de una afirmación y de unas instrucciones para formularlos (ya sea

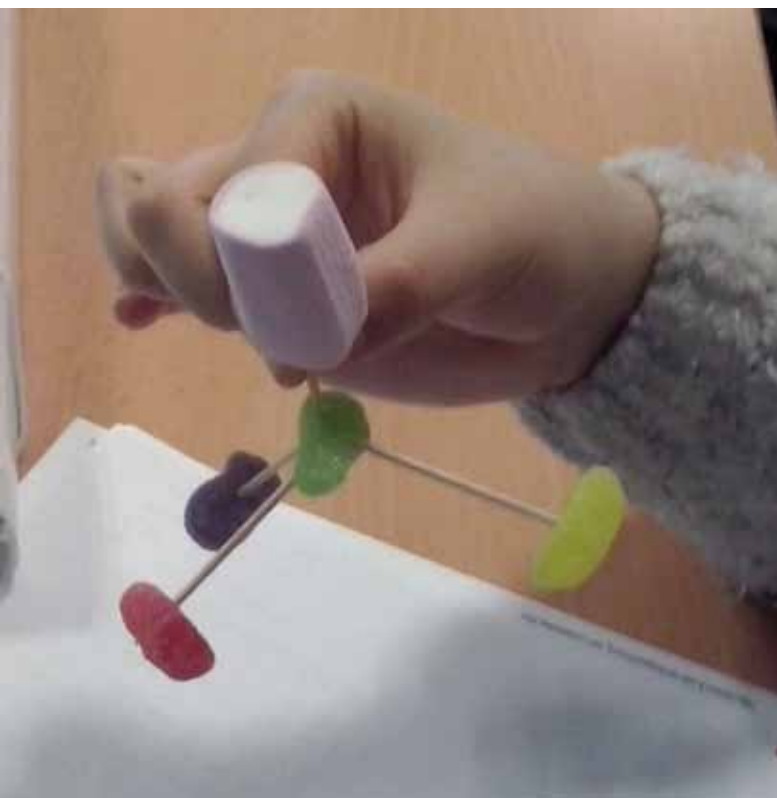
empleando fórmulas estructurales estereoquímicas o modelos en 3D), comprendan de forma espontánea, casual, que hay dos posibles estereoisómeros y que no son la misma molécula. Esto sin hablarles de configuraciones, de carbonos asimétricos, de imágenes especulares o nomenclaturas. Dicho de otro modo, no enunciemos la existencia de estereoisómeros, con una definición y unas reglas, sino más bien hagamos que se descubra su existencia sin imponer ninguna norma.

MATERIAL

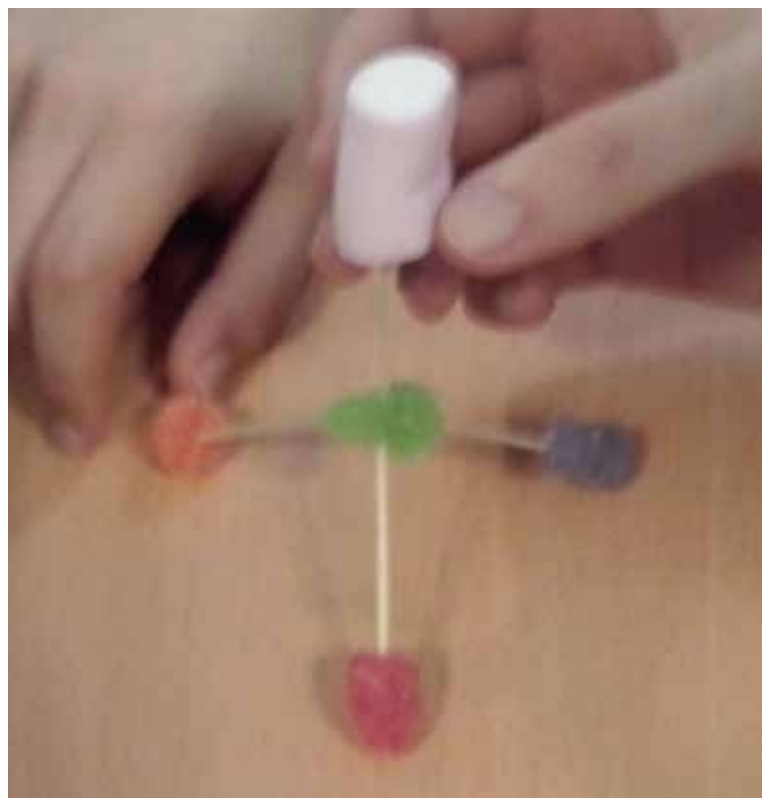
Repartimos a cada grupo (formado, por ejemplo, por dos alumnos) cuatro palillos mondadientes, cuatro gominolas de colores diferentes y una “nube” (esponja dulce o marshmallow).

Las golosinas indicadas pueden sustituirse libremente por las variedades que estén disponibles. Sí es importante que sean distinguibles: si no pueden ser 5, al menos se precisan 4 tipos o colores (la central podría coincidir en color con una de las periféricas).

Instrucciones	Comentario
1/ Toma una gominola de color verde.	Esta representará el carbono alfa del aminoácido, pero no debemos mencionarlo aún.
2/ Pincha en ella 4 palillos, de modo que queden bien separados en las tres dimensiones del espacio (no todos en un mismo plano). Quizás así: dos palillos formando una V y, al lado opuesto, otros dos formando otra V que sea perpendicular a la primera.	Para ser precisos, deberían estar dirigidos a los vértices de un tetraedro, pero la exactitud de la geometría no es lo más importante. ¿Quién sabe construir tetraedros, realmente? Plantear que hay que construir un tetraedro quizás introduzca un elemento de complejidad que distraiga del objetivo primordial.
3/ Pincha, al otro extremo de tres de los palillos, sendas gominolas de colores morado, rojo y amarillo.	No debemos dar instrucción alguna sobre en qué orden o disposición debe colocarse cada color. Dejad que lo hagan al azar.
4/ En el cuarto palillo, pincha una “nube” (esponja, marshmallow)	Podría ser una gominola de un quinto color pero, puesto que esta será la cadena lateral del aminoácido, es adecuado que se diferencie del resto y sea de mayor tamaño.
5/ Compara el resultado con el de tus compañeros. Dale a los modelos las vueltas que sea preciso para ver si coinciden entre sí. ¿Son iguales o son diferentes? ¿Cuántas posibilidades existen?	Espontáneamente deben darse cuenta de que, sin directrices, se han formado dos configuraciones diferentes, dos estereoisómeros. Alguno más entrenado quizás formule la observación de que son imágenes especulares.



Modelo que, tras su análisis, resultó corresponder a un L-aminoácido.



Otro modelo que, analizado, resultó corresponder a un D-aminoácido. (La gominola naranja debería haber sido amarilla; aprovechamos el error casual decidiendo sobre la marcha que en lugar de H representaría deuterio).

Una vez haya calado la percepción de que hay dos posibles moléculas diferentes, ni más ni menos, podemos introducir el contexto o interpretación química:

PRESENTACIÓN

Nuestro modelo de confitería representa la estructura de un aminoácido. La gominola verde, central, con 4 palillos (enlaces) que la conectan a otras, representará

el carbono alfa. La roja puede ser el grupo carboxilo y la morada el grupo amino, mientras la amarilla representa el hidrógeno. La nube corresponderá a la cadena lateral del aminoácido.

A continuación, podemos presentar la terminología de un modo más tradicional, sistemático y científico, o quizás prescindir de ello si pensamos que para nuestros alumnos en concreto puede suponer una sobrecarga. El concepto esencial ya se habrá asentado aunque no lo convirtamos en tecnicismos.

Instrucciones	Comentario
6/ Coloca el modelo de modo que la gominola roja y la nube queden hacia atrás; es decir, más alejadas de ti que la verde.	Seguimos el convenio para dibujar proyecciones de Fischer (pero sin mencionarlas).
7/Gíralo si es preciso para que la roja quede hacia arriba y la nube hacia abajo (y ambas sigan estando hacia atrás)	
8/Si la gominola morada está hacia la izquierda, tu aminoácido es L- y puedes comértelo (salvo los palillos); si queda hacia la derecha, es D- y, aunque te lo comas, no pasará a formar parte de las proteínas de tu cuerpo	Esto es una pequeña broma destinada a transmitir el mensaje de cuál es la configuración utilizada en las proteínas

AZÚCARES, BEBIDAS DIETÉTICAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En este caso, con un mensaje de fondo relativo a la faceta nutricional de la bioquímica, sazonado de un análisis crítico de los mensajes habituales en la mercadotecnia, la actividad en sí es trivial en cuanto al aprendizaje que podemos conseguir en contenidos de la materia, pero la idea es aprovechar para convertirla en un experimento que debemos diseñar siguiendo los principios del método científico, y así presentar a nuestros jóvenes en qué consiste éste y cómo son las estrategias de adquisición de conocimientos en las ciencias. Aunque se adivinen el resultado y la explicación de los hechos observados, la clave para que la experiencia sea provechosa está en poner el énfasis en el método, haciendo si es necesario de abogado del diablo para atajar o cuestionar las interpretaciones fáciles. Es importante que procuremos callarnos, no propongamus respuestas ni hipótesis, sino más bien que induzcamos a que sean los alumnos quienes las planteen, desarrollen, discutan, descarten...

MATERIAL

- Una balanza de dos platos (de las que ya casi no existen).
- Una lata de refresco de cola normal y otra del mismo refresco en su variedad “zero” (sin cafeína, sin calorías).

ACTIVIDAD

Objetivo del experimento: Tenemos dos muestras que queremos comparar, y ser capaces de explicar las diferencias que observemos.

Fase 1: verificación del instrumental, control o calibración.

Comprueba que la balanza está equilibrada: sin nada en los platillos, el fiel debe señalar el punto medio de la escala. De ser necesario, añade un pequeño peso a uno de los platos (por ejemplo, una moneda, una bolita de papel de aluminio...).

Fase 2: realización del experimento inicial.

Coloca una lata de refresco en cada plato de la balanza. Observa el resultado: ¿está equilibrada? De no ser así, ¿qué lata pesa más?

Es procedente hacer un control adicional del equipo y de las condiciones de medida: intercambia las dos latas. ¿Ha cambiado el resultado?

Fase 3: análisis de los resultados; propuesta de hipótesis.

¿Hemos descartado cualquier interferencia o efecto atribuible al equipo de medida? De ser así, lo que hemos observado se deberá a las propiedades de las muestras (las dos latas y el refresco que contienen).

Propón varias explicaciones para los hechos observados, tantas como se te ocurran; no importa si algunas te parecen menos razonables.

Por ejemplo:

- [H1] Las latas contienen cantidades diferentes de refresco.
- [H2] Las latas están hechas de diferente material.
- [H3] Hay diferencias en las propiedades del contenido (el refresco).

Fase 4: validación de las hipótesis con experimentación adicional.

Para H1: Examina las dos latas para comprobar en las etiquetas su capacidad (volumen) nominal. Normalmente serán ambas de 33 cl y debemos descartar esta hipótesis.

Quizás debamos abrir las latas, extraer el refresco y medir nosotros mismos su volumen usando un equipo adecuado (una probeta).

Para H2: ¿Cómo comprobarías el material de las latas? Leyendo el etiquetado, ensayando con un imán, rayando con una navaja...

Vaciando las latas y pesándolas (realmente no necesitamos saber de qué están hechas, sino si son responsables de la diferencia observada).

Para H3: ¿Qué magnitud o propiedad del refresco será diferente? ¿A qué se puede deberse?

Aparecen nuevas hipótesis, más específicas:

[H4] Se debe al peso de la cafeína, que sólo tiene uno de los refrescos.

[H5] Se debe al peso del azúcar, que sólo tiene uno de los refrescos.

¿Qué harías para valorar si estas hipótesis son plausibles? Por ejemplo, estudiar la información nutricional, bien en la etiqueta de la lata o en fuentes de información adicionales.

Más importante: ¿Qué harías para comprobar si esto es la causa del resultado observado?

Propuestas de análisis y de experimentos:

¿Cuánto crees que puede pesar la cafeína del refresco? Busca el dato de solubilidad de la cafeína para ver si es posible que contenga esa cantidad.

Añadir azúcar al contenido de la lata que pesa menos. Habrá que asegurarse de que es posible disolverlo.

Conseguir una lata de la variedad de refresco de cola con cafeína pero sin azúcar y pesarla.

Pues, como decía aquél: ¡eso es todo, amigos! Ojalá estas reflexiones os hayan resultado inspiradoras.

Ángel Herráez

Bioquímica y Biología Molecular
Dep. de Biología de Sistemas
Universidad de Alcalá

CRISPR Core Partnership Program, un ejemplo de colaboración entre la empresa y la academia



Reunión organizada por Sigma, ahora Merck, con los directores de algunas de las plataformas más importantes de Europa en el Lago di Como (Italia).

Ante el interés sobre la tecnología CRISPR, en mayo de 2015 Sigma, ahora parte de Merck, en colaboración con la Dra. Belén Pintado, responsable de la Unidad de Transgéneis del CBM y CNB, organizó un seminario titulado: "Genome editing: A new tool for generating genetically modified animal models". En este evento miembros de Sigma, ahora Merck, y ponentes de diferentes centros de investigación, entre ellos la Dra. Belén Pintado, compartieron su conocimiento con investigadores interesados en el tema.

Esta nueva herramienta tecnológica abre ante nosotros la posibilidad de nuevos abordajes en el estudio de en-

de colaboración con plataformas tecnológicas en universidades como la de Columbia, California, Helsinki y Leiden.

A tal fin, en junio de 2015 Sigma reunió a los directores de algunas de las plataformas más importantes de Europa en el Lago di Como. Allí, responsables de esta línea de productos de Sigma Europa y Estados Unidos hicieron presentaciones, mesas redondas y debates sobre el uso de esta tecnología.

Como resultado del interés despertado, se firmaron distintos acuerdos de colaboración. En particular, en octubre de 2015 se firmó el acuerdo de colaboración con el CBM y el CNB. El acuerdo lo firmaron la Dra. Belén Pintado Su-

nando Rojo y Dr. José F. de Celis Ibeas, respectivamente y por parte de Sigma, ahora Merck, la Dra. Silvia Di Meglio, responsable de CRISPR en el sur de Europa. Mencionar el apoyo inestimable de Carolina Martín, de servicio técnico Sigma España y de la Dra. Paloma Arias, jefe de Ventas del segmento académico en Sigma por sus aportaciones y ayuda en la firma de dicho convenio.

Y en tiempo record esta plataforma ya es una realidad de tal manera que a día de hoy el Servicio de Transgénesis CNB-CBMSO, que es parte del CRISPR *Core Partnership Program*, da acceso a todos los investigadores de ambos centros, CNB y CBMSO, a toda la gama de productos de Sigma, ahora Merck, relacionados con los CRISPR, incluyendo nuevos productos en desarrollo que aún no han sido comercializados.

La Unidad de transgénesis CNB-CBMSO nació con el objetivo de crear sinergias que permita optimizar los recursos y aumentar las prestaciones a los investigadores de ambos centros. Con la firma de este convenio esta unidad se convierte en un servicio mucho más importante y con un mayor alcance gracias a la colaboración de Sigma, ahora Merck.

ESTA NUEVA HERRAMIENTA TECNOLÓGICA NOS ABRE NUEVOS ABORDAJES EN EL ESTUDIO DE ENFERMEDADES COMPLEJAS.

fermedades complejas y en el diseño de nuevos modelos animales, ya que la tecnología permite tanto la edición genómica de cultivos celulares como de embriones.

Para hacer frente a esta nueva demanda tecnológica Sigma propone un programa

pervisor Científica y Directora Técnica de la unidad de transgénesis CNB-CBMSO; Peter Lindqvist, responsable de esta línea de productos en Europa y Elena López de Sigma, como responsable del CNB. A la firma asistieron los directores del CNB y el CBM, Dr. Fer-

LA APARICIÓN DE APÉNDICES EN VERTEBRADOS FUE POSIBLE POR UN CAMBIO EN LA ORGANIZACIÓN 3D DEL GENOMA

Las enormes moléculas de ADN de nuestro genoma están altamente plegadas. Y no sólo para ajustarse al reducido espacio del núcleo celular: hoy sabemos que este plegamiento está finamente regulado y es crucial para la correcta activación de los genes. Científicos del CSIC y la Universidad Pablo de Olavide, junto a un grupo francés, demuestran ahora que cambios en la organización 3D en la región genómica de los genes Hox de vertebrados fueron fundamentales para la evolución de innovaciones anatómicas como las extremidades.

En gran medida, los animales se construyen con el mismo conjunto de genes; genes como los Hox que además ocupan menos del 5% de sus genomas. Lo que diferencia a las distintas especies reside en el 95% restante, que alberga una ingente cantidad de regiones reguladoras o “interruptores” para controlar de modo preciso cuándo, cuán-



to y dónde se encienden los genes. Estos interruptores son tan numerosos y están a veces tan alejados de los genes que regulan, que el ADN tiene que organizarse en

compartimentos 3D, en forma de pequeños ovillos que acerquen o separen, según corresponda, genes e interruptores.

Los genes Hox son esenciales para establecer el eje desde la cabeza a la cola de los animales. En vertebrados además controlan la formación de extremidades. Para ello es esencial la alternancia entre dos compartimentos u “ovillos” con elementos reguladores situados a ambos lados de los genes Hox. Los resultados de estos investigadores muestran que en el anfibio, un cordado marino cercano a los vertebrados pero carente de extremidades, los Hox no están divididos en dos compartimentos, sino que están incluidos en un solo dominio 3D. Esto sugiere que la estructura bipartita de los Hox de vertebrados es una novedad evolutiva, y resalta la importancia de la estructura 3D del ADN en el correcto funcionamiento de células y organismos a lo largo de la evolución.

Acemel RD, Tena JJ, Irastorza-Azcárate I, Marlétaz F, Gómez-Marín C, de la Calle-Mustienes E, Bertrand S, Díaz SG, Aldea D, Aury JM, Mangenot S, Holland PW, Devos DP, Maeso I, Escrivá H, Gómez-Skarmeta JL. *Nature Genetics* 2016. Feb 1. doi: 10.1038/ng.3497.

LAS MOLÉCULAS DE AGUA MEDIAN EL RECONOCIMIENTO ENTRE POFUT2 Y LOS DOMINIOS TSR

“Las enzimas O-fucosiltransferasas catalizan la reacción de O-fucosilación, una modificación post-traduccional de las proteínas poco frecuente que resulta esencial en algunas rutas de señalización de los organismos eucariotas para mantener las funciones básicas de las células. En particular, la enzima O-fucosiltransferasa 2 (POFUT2) en humanos se encarga de fucosilar dominios en tándem, conocidos como TSR, que contienen una secuencia consenso tipo C-X-X-S/T- y se encuentran en un gran número de proteínas de nuestro cuerpo. La O-fucosilación de los dominios TSR es un proceso esencial para su correcto plegamiento y estabilidad. Hasta la fecha no se conocía cómo las O-fucosiltransfera-

sas reconocen y fucosilan a un gran número de sustratos TSR con identidades de secuencia tan variables, que oscilan entre el 17 y el 35% de identidad.

Los estudios del grupo de Ramón Hurtado-Guerrero, investigador ARAID en el Instituto de Biocomputación y Física

Los estudios del grupo de Ramón Hurtado-Guerrero han demostrado que las moléculas de agua tienen un papel esencial en el proceso de O-fucosilación en dominios TSR

de Sistemas Complejos (BIFI-Universidad de Zaragoza), en colaboración con varios grupos nacionales (Universidad de La Rioja, Universidad de Zaragoza/INA, CSIC/Estación experimental del

Aula Dei-Zaragoza) e internacionales (University of Georgia/Stony Brook) han demostrado que las moléculas de agua tienen un papel esencial en este proceso. Facilitan el reconocimiento molecular entre POFUT2 y las regiones TSR y permiten la dinámica y flexibilidad necesaria para que POFUT2 sea una enzima eficiente. De esta manera un conjunto de moléculas de agua ordenadas y relativamente flexibles permiten a estas enzimas reconocer sin errores sus sustratos proteicos. Es decir, estos datos muestran que existen enzimas multiespecíficas en las cuales el reconocimiento molecular de secuencias se produce por interacciones proteína-proteína no específicas mediadas por moléculas de agua.

Valero-González J, Leonhard-Melief C, Lira-Navarrete E, Jiménez-Osés G, Hernández-Ruiz C, Pallarés MC, Yruela I, Vasudevan D, Lostao A, Corzana F, Takeuchi H, Haltiwanger RS, Hurtado-Guerrero R. A proactive role of water molecules in acceptor recognition by protein O-fucosyltransferase 2. *Nature Chemical Biology* 2016; February 8. DOI:10.1038/nchembio.2019.

ÁCIDOS GRASOS NITRADOS: NUEVOS COMPONENTES DEL METABOLISMO DEL ÓXIDO NÍTRICO EN PLANTAS

En los últimos años los estudios sobre el óxido nítrico (NO) en plantas a nivel molecular se han centrado fundamentalmente en la identificación y caracterización de modificaciones post-traduccionales (PTMs) de proteínas mediadas por NO, tales como la nitración y la S-nitrosilación y el efecto que ejercen sobre la actividad biológica. No obstante, estudios recientes en sistemas animales han demostrado que el NO puede afectar también a otras biomoléculas como los lípidos, generando los denominados ácidos grasos nitrados, nitrolípidos o nitroalquenos (NO₂-FA). De hecho, en organismos animales, los NO₂-FA se consideran novedosos mediadores de señalización celular que abarcan un amplio conjunto de

respuestas celulares. Sin embargo, en sistemas vegetales no existía información relacionada con la presencia y función de estas moléculas. En este sentido, un reciente artículo firmado por investigadores de la Universidad

de Jaén y de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC), ha permitido la caracterización funcional de estos derivados lipídicos del óxido nítrico en organismos vegetales. El estudio pone de manifiesto la presencia de ácido nitro-linolénico (NO₂-Ln), su modulación a lo largo del desarrollo de *Arabidopsis thaliana* y el papel señalizador en la inducción de la respuesta antioxidante frente a diferentes situaciones de estrés abiótico. En este sentido, los estudios de transcriptómica funcional efectivamente indicaron que el NO₂-Ln está implicado fundamentalmente en la respuesta de defensa frente a diferentes situaciones que cursan con estrés oxidativo, a través de la modulación de proteínas de choque térmico (HSPs), poniendo además de manifiesto un mecanismo de actuación conservado en sistemas animales y vegetales. La capacidad de señalización de estas moléculas establece un nuevo contexto de investigación en el campo del NO en plantas.

Estudios recientes en sistemas animales han demostrado que el NO puede afectar también a otras biomoléculas como los lípidos, generando ácidos grasos nitrados, nitrolípidos o nitroalquenos.

Mata-Pérez C, Sánchez-Calvo B, Padilla MN, Begara-Morales JC, Luque F, Melguizo M, Jiménez-Ruiz J, Fierro-Risco J, Peñas-Sanjuán A, Valderrama R, Corpas FJ, Barroso JB. Nitro-Fatty Acids in Plant Signaling: Nitro-Linolenic Acid Induces the Molecular Chaperone Network in Arabidopsis. *Plant Physiology* 2016 Feb;170(2):686-701.

FORMACIÓN DE LINAJES BACTERIANOS MEDIANTE METILACIÓN DIFERENCIAL DEL ADN

Tradicionalmente se ha considerado que las bacterias eran clones de células idénticas, y que los programas bacterianos de desarrollo eran casos excepcionales. Sin embargo, las tecnologías de análisis de células individuales han revelado que la formación de subpoblaciones bacterianas es un fenómeno común. En este artículo, el grupo liderado por J. Casadesús de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla, describe un ejemplo de formación de linajes en el patógeno humano *Salmonella enterica*: la expresión de un operón llamado *opvAB* está sujeta a variación de fase (biestabilidad reversible), generando dos subpoblaciones de células que difieren en la longitud del antígeno

O del lipopolisacárido. La subpoblación *OpvABON* es resistente a fagos y avirulenta, mientras que la subpoblación *OpvABOFF* es sensible a fagos y virulenta. La variación de fase genera continuamente células de ambos tipos, y el fenómeno puede entenderse como una respuesta anti-

lación del operón *opvAB* es transcripcional, y el promotor está activo o inactivo dependiendo del patrón de unión de un factor de transcripción llamado *OxyR*. A su vez, el patrón de unión de *OxyR* determina el patrón de metilación del DNA en el promotor. Como consecuencia, los linajes *OpvABOFF* y *OpvABON* de *Salmonella* difieren en el patrón de metilación del promotor *opvAB*, de un modo que recuerda a los patrones de metilación de los genomas eucarióticos (con la diferencia de que en las bacterias la base metilada es N6-metiladenina). Los autores concluyen que esta estrategia de supervivencia puede ser relevante en la interacción huésped-patógeno.

En este artículo liderado por J. Casadesús de la Facultad de Biología de la Universidad de Sevilla, se describe un ejemplo de formación de linajes en el patógeno humano *Salmonella enterica*.

cipatoria que permite la supervivencia de una fracción de la población tras el encuentro con un bacteriófago (un suceso probable dada la abundancia de fagos en la naturaleza). La regu-

Cota I, Bunk B, Spröer C, Overmann J, König C, Casadesús J. OxyR-dependent formation of DNA methylation patterns in *OpvABOFF* and *OpvABON* cell lineages of *Salmonella enterica*. *Nucleic Acids Research* 2015; Dec 19. pii: gkv1483.

LA DINÁMICA MOLECULAR APLICADA AL RECEPTOR DE LAS LDL

La Hipercolesterolemia Familiar (FH) es una enfermedad genética, con prevalencia del 0.2 %, que aumenta el riesgo de sufrir enfermedades cardio y cerebrovasculares. En su mayoría, las mutaciones FH afectan al receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL-r), responsable de retirar el colesterol de la circulación sanguínea. Para entender la relación entre mutación y fenotipo en FH el equipo liderado por Javier Sancho de la Universidad de Zaragoza, ha desarrollado un método que analiza las cinéticas de relajación que se observan en simulaciones de Dinámica Molecular de la estructura silvestre al introducir una mutación. Con este método han podido explorar y analizar el espacio mutacional completo del módulo

quinto del receptor (227 mutaciones no sinónimas). Por otro lado, integrando información disponible, se ha delineado el sitio de unión del módulo a sus distintas parejas. De las 50 mutaciones FH conocidas, 33 son mutaciones desestabilizantes y otras

El equipo de la Universidad de Zaragoza ha desarrollado un método que analiza las cinéticas de relajación en simulaciones de Dinámica Molecular de la estructura silvestre al introducir una mutación.

16 tienen lugar en el sitio de unión. La mutación FH restante podría afectar a la reacción de plegamiento y no ser detectable por el método propuesto. La conclusión es que la FH (en la parte correspondiente al

módulo quinto del LDL-r) se debe a mutaciones que causan o pérdida de estabilidad o pérdida de afinidad por parejas fisiológicas. En base a ello el equipo propone el fenotipo probable de cada uno de los 227 SNP del módulo y además, con suficiente poder de cálculo, será posible hacer un diagnóstico computacional anticipado de la Hipercolesterolemia Familiar a partir de simulaciones del receptor de LDL y de las proteínas con las que interactúa. Así mismo, se puede imaginar la extensión del método al análisis de otras proteínas pequeñas implicadas en otras patologías y, en su momento, a proteínas de mayor tamaño. El método desarrollado es puramente estructural y no utiliza aproximaciones evolutivas.

Angarica VE, Orozco M, Sancho J. Exploring the Complete Mutational Space of the LDL receptor LA5 Domain Using Molecular Dynamics: Linking SNPs with Disease Phenotypes in Familial Hypercholesterolemia. *Human Molecular Genetics* 2016, 25(6):1233-46.

NUEVOS HALLAZGOS EN LA NEUROPATÍA AXONAL CHARCOT-MARIE-TOOTH

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es el trastorno neurológico hereditario más frecuente y, aun así, es una enfermedad rara. Es una neuropatía que afecta primariamente a la mielina o a los axones de los nervios motores y sensitivos, y presenta la complejidad biológica de una gran heterogeneidad genética, con más de 80 genes descritos que ejercen funciones muy diversas. Se ha encontrado el gen causante de la neuropatía en más del 90 por ciento de los pacientes y familias con formas CMT desmielinizantes, mientras que en número en el caso de las variantes clínicas axonales no se alcanza el 50 por ciento de los individuos afectados. En el seno del Con-

sorcio Español CMT (www.treat-cmt.es), investigadores del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, el Centro de Investigación Príncipe Felipe, el Institut de Recerca Hospital Sant Joan de Déu, el CIBERER y otros hospitales universitarios, publican un trabajo en el que describen un

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es el trastorno neurológico hereditario más frecuente y, aun así, es una enfermedad rara.

nuevo gen asociado con una forma CMT axonal. Los pacientes pueden debutar en la infancia con debilidad generalizada, recordando a la atrofia muscular espinal, o en la edad adulta

con debilidad próxima y distal asimétrica y afectación sensitiva. MORC2 (Microorchidia CW-type zinc finger 2) es una proteína de la familia MORC. Se ha postulado que se trata de un supresor transcripcional en células cancerosas, especialmente de cáncer gástrico, aunque también se ha relacionado con la respuesta al daño del DNA. Mediante microscopía confocal los autores han observado que MORC2 se expresa tanto en los axones como en las células de Schwann de nervios murinos, lo cual induce a pensar que pueda jugar un papel en la interacción axón-mielina. Estos hallazgos expanden el espectro de las causas y mecanismos genéticos de la neuropatía CMT axonal.

Sevilla T, Lupo V, Martínez-Rubio D, Sancho P, Sivera R, Chumillas MJ, García-Romero M, Pascual-Pascual SI, Muelas N, Dopazo J, Vilchez JJ, Palau F, Espinós C. Mutations in the MORC2 gene cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2016; 139 (Pt1): 62-72.

JOSÉ M^º SEGOVIA DE ARANA

Promotor de la Medicina Asistencial y Científica

Federico Mayor Zaragoza

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular
Presidente del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces

Ha muerto a los 96 años el doctor José María Segovia de Arana, artífice de los principales avances en la formación e investigación médicas en España. Su nombre figurará para siempre asociado con el fondo de investigaciones sanitarias (FIS), la formación médica especializada (Médicos Internos Residentes, MIR), y la esencial conexión universitaria de los hospitales.

Recuerdo cuando hace años —formaba parte del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces desde que el profesor Severo Ochoa, su presidente, solicitó la incorporación del doctor Segovia de Arana— me decía que la salud no solo debía ser el centro de la política sanitaria sino de la política sin adjetivos.

“El esfuerzo conjunto de todos los sanitarios para conseguir no solo tratar adecuadamente las dolencias sino prevenirlas es el gran objetivo y el mejor horizonte que puede ofrecerse a los ciudadanos”. Fue infatigable en contribuir a la actualización de la formación, a la adecuada actuación diagnóstica y a la disponibilidad de los conocimientos que permitieran el constante progreso de los niveles de salud.

Nació en Villasequilla, Toledo, el 16 de septiembre de 1919. Se doctoró en la Universidad Central de Madrid en



1947 y prosiguió su preparación en la Clínica Jiménez Díaz y en Estados Unidos. Fue nombrado catedrático de Patología y Clínica Médica en la Universidad de Santiago de Compostela en 1962. Uno de los momentos más importantes de su incomparable trayectoria fue su labor como fundador y decano de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, donde ejerció como catedrático de Patología, pasando a profesor emérito tras su jubilación.

Otra de las facetas más relevantes fue la de fundador y director —durante 30 años— de la Clínica Puerta de Hierro de Madrid, que se convirtió en el centro referente y precursor de los “Hospitales Universitarios”. Fue en este centro donde, por expresa decisión suya, se llevó a cabo con éxito el trasplante de hígado a una niña de 13 años, por un equipo integrado por casi 30 facultativos bajo la dirección del doctor Diego Figuera Aymerich. Esta operación ha permanecido como uno de los principales puntos de partida para ulteriores trasplantes.

Fue secretario de Estado de Sanidad y en 1982 vicepresidente del Comité Ejecutivo de la Organización Mundial de la Salud. Su “especialidad” eran las transiciones demográficas y epidemiológicas, destacando el impacto en la sanidad de la longevidad y de la duración de la vida activa en la vida social.

Algunos temas de sus artículos resumen muy bien los grandes pilares de su obra; Transición demográfica, envejecimiento y medicina preventiva; La responsabilidad social de la investigación médica; Aspectos éticos y sociales de la medicina preventiva...

Era académico de número de la Real Academia Nacional de Medicina —su discurso de ingreso, en marzo de 1998, titulado Medicina, sanidad, salud, resume muy bien su semblanza— y de la Real Academia de Ciencias Morales y Políticas.

Hace tan solo dos años dirigió en La Granda, sede de los cursos de verano de la Universidad de Oviedo, un excelente seminario sobre Las nuevas tendencias en la Medicina.

La salud constituye el interés supremo de los seres humanos, para vivir digna y plenamente el misterio de la existencia. El doctor Segovia Arana se ha ausentado a los 96 años, pero seguirá inspirando siempre el ejercicio de la Medicina. ■

EL DR. SEGOVIA DE ARANA nació en Villasequilla, Toledo, el 16 de septiembre de 1919. Se doctoró en la Universidad Central de Madrid en 1947 y prosiguió su preparación en la Clínica Jiménez Díaz de Madrid y en Estados Unidos. Fue nombrado catedrático de Patología y Clínica Médica en la Universidad de Santiago de Compostela en 1962.

Ganadores del concurso "Cuéntaselo a tus padres"

La SEBBM ha querido impulsar la participación de los estudiantes universitarios en sus actividades, organizando el concurso de divulgación científica Cuéntaselo a tus padres y creando la figura gratuita de SEBBM-

estudiante, que cuenta ya con más de 500 inscritos. Os presentamos a los ganadores del concurso, agradeciendo a todos los participantes su contribución a la difusión de la ciencia y animando a todos a concurrir a próximas

ediciones. En el próximo número de la revista aparecerán las reseñas de los premiados con menciones especiales. Podéis encontrar más información y el link a los vídeos seleccionados en nuestra página web.



Carmen Cauqui

Primera clasificada categoría individual

con el vídeo "Bienvenido al mundo del colesterol y de la aterosclerosis"

Carmen Cauqui Díaz.

En 2015 inició sus estudios de Medicina en la Universidad Rey Juan Carlos (Alcorcón, Madrid), convirtiéndose en la que será su octava promoción. Está interesada en los temas de salud que conciernen a la infancia y en mejorar el sistema de asistencia sanitaria. Ha sido voluntaria en organizaciones como Cruz Roja Juventud, donde ha participado en proyectos de sensibilización y en campañas por el *Día Mundial contra el SIDA*.



Leyre Marín

Segunda clasificada categoría individual

con el vídeo "El rumbo de las bacterias"

Leyre Marín Arraiza (Jaén).

Estudia segundo curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Politécnica de Madrid. Siempre ha compaginado sus estudios con el aprendizaje de otras lenguas. Se considera una persona curiosa y viajera. Su afán por conocer, junto con su curiosidad científica, la animan a estudiar esta carrera. Le interesa la investigación relacionada con la salud, ya sea en el área médica, alimentaria o medioambiental.



Sara García

Tercera clasificada categoría individual

con el vídeo "Pero hija, ¿qué es la bilirrubina?"

Sara García Dosil.

Actualmente estudia segundo curso del Grado de Biología en la Universidad de Salamanca. No ha llegado al ecuador de sus estudios, pero ya tiene claro que le interesan materias como la Bioquímica y la Biología Celular y Molecular. En un futuro le gustaría dedicarse a algo relacionado con la investigación en estas áreas, aunque como todavía no se ha enfrentado a todas las asignaturas sigue abierta a otras posibilidades.



Adrián Gómez, Marisol Benítez y Mario Rodríguez.

Ganadores categoría grupo

con el vídeo "Bacterias, antibióticos y resistencia"

Mario Rodríguez Mestre, María Soledad Benítez Cantos y Adrián Gómez Fоче.

Adrián, Marisol y Mario (de izquierda a derecha en la foto) son tres estudiantes del segundo curso del Grado en Bioquímica en la Universidad de Granada. Mario es de Huelva, Marisol de Lorca (Murcia) y Adrián de Granada. Su pasión por la divulgación científica y la bioquímica, unida a la experiencia con algunos programas de edición y producción de vídeo, les llevó a participar en el concurso.

Marta Cascante recibe la Medalla Narcís Monturiol al Mérito Científico y Tecnológico

“Los profesores de la Universidad de Barcelona Marta Cascante, catedrática del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular (Biología), y David Serrat, catedrático del Departamento de Geodinámica y Geofísica, recibieron el jueves 11 de febrero la Medalla Narcís Monturiol al mérito científico y tecnológico.

La 22.ª edición de este galardón distinguió a dieciséis personalidades y tres instituciones de reconocido prestigio. El acto de entrega, que tuvo



lugar en el Palacio de la Generalitat, estuvo presidido por el consejero de Empresa y Conocimiento, Jordi Baiget, acompañado por el secretario de Universidades e Investigación, Arcadi Navarro, y el director general de Investigación, Josep Maria Martorell.

Estos premios, instituidos por la Generalitat de Cataluña en el año 1982, distinguen a las personas y entidades que han contribuido de forma destacada al desarrollo de la ciencia y la tecnología en Cataluña.

Marta Cascante i Serratos, autora de más de 150 publicaciones científicas, ha centrado su investigación en el estudio del cáncer y las enfermedades metabólicas, un ámbito en el que ha sido pionera desarrollando herramientas para el análisis de sistemas bioquímicos con finalidad biomédica o biotecnológica.



María A. Blasco, Premio Miguel Catalán 2015

María A. Blasco Marhuenda, directora del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), ha obtenido el Premio Miguel Catalán 2015 a la carrera científica, que concede la Comunidad de Madrid. María Blasco es uno de los referentes mundiales en el estudio de los telómeros y su papel en el ciclo celular, el cáncer y el envejecimiento, en una trayectoria que va desde los descubrimientos en ciencia básica, hasta las aplicaciones preclínicas.

Fernando Moreno Herrero, Premio Miguel Catalán a Jóvenes Investigadores

Fernando Moreno Herrero, Científico Titular en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB), ha obtenido el Premio Miguel Catalán 2015 a investigadores de menos de 40 años, que concede la Comunidad de Madrid. Licenciado en Ciencias Físicas por la Universidad de Oviedo y Doctor en Físicas por la Universidad Autónoma de Madrid, con Premio Extraordinario, bajo la dirección del profesor Arturo Baró. Su formación postdoctoral,



en la Universidad Técnica de Delft, usando técnicas de molécula individual basadas en atrapamiento óptico y magnético le llevaría después al desarrollo de equipos de pinzas magnéticas y su aplicación a sistemas biológicos de interés. Su trabajo en las áreas fronterizas de la Física y la Biología ha llevado a su grupo de investigación a ser referencia internacional en el área de estudios de moléculas individuales en biología.

Próximos eventos internacionales en Bioquímica y Biología Molecular

FEBS IUBMB Workshop on Biointeractomics: From Bimolecular Interactions to Networks

Sevilla, España / 17-20 de mayo 2016.

Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis cicCartuja
Universidad de Sevilla - CSIC
Avda. Américo Vespucio, 49
41092 Sevilla, España
Web: www.biointeractomics2016.org

XII Jornada de Actualización en Genética Humana

Hospital Universitario de Cruces.
Barakaldo, España / 8 de abril de 2016.

Organiza: Asociación Española de Genética Humana (AEGH) y Osakidetza.
Web: <http://www.geyseco.es/genetica16/index.php?go=inicio>
A lo largo de estos 25 años los estudios, investigaciones, publicaciones y avances sobre estas enfermedades hereditarias han sido espectaculares. La AEGH no podía dejar de reconocer tantos trabajos y esfuerzos en este campo y por ello han invitado a un gran elenco de ponentes a esta interesante jornada.

Neurogénesis adulta en el cerebro humano, ¿realidad o ficción?

Madrid, España / 29 de abril de 2016.



Organiza: Marina Sánchez, Laboratorio de Neurología.
Telf. 91 550 48 00/ ext. 3251
e-mail: msanchezg@fjd.es
Web: <C:/Users/Alejandra/Downloads/XI Ciclo Seminarios biomedicina.pdf>
Seminario impartido por el Dr. José Manuel García Verdugo, del Instituto Cavanilles. Universidad de Valencia / CIBERNED, incluido dentro del XI Ciclo Seminarios de Biomedicina organizado por el IIS Fundación Jiménez Díaz (Madrid).

Modern Biotechnologies in sustainable development of Danube Delta

Murghiol, Rumanía / 24-28 de mayo 2016.

Organiza: Alexandru Amarioarei, Researcher, Organizing Committee Co-Chair National Institute for Research and Development for Biological Sciences – Bioinformatics.

Tel.: +40 021 220 77 80

Fax: +40 021 220 76 95

e-mail: [standard.conference2016\[at\]incdsb\[dot\]ro](mailto:standard.conference2016[at]incdsb[dot]ro)

FEBS / IUBMB course on Molecular basis of human diseases: 50 years anniversary of Spetses summer schools

Spetses, Grecia / 29 de mayo – 1 de junio 2016.

Organizador: Dr Stathis Gonos.

Inscripciones: Antes del 28 de marzo de 2016.

www.eie.gr/nhrf/institutes/ibrb/spetses-2016/welcome_message.html

El programa científico abarca una amplia gama de temas, incluyendo conferencias sobre las funciones biológicas fundamentales y su relación con las enfermedades, así como conferencias centradas en diversas patologías. El programa incluye conferencias, carteles y varias sesiones de formación que permitirán a los investigadores jóvenes interactuar con reconocidos expertos internacionales. Además, habrá "tutoriales" donde los científicos más jóvenes podrán aprovechar los consejos de investigadores de alto nivel.

CATABOLITOS



SEBBM

Salamanca 2016

XXXIX Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular
Del 5 al 8 de septiembre



www.sebbm.es/xxxixcongreso



La **SEBBM** contribuye al progreso de la Ciencia

Con un crecimiento continuado neto de 50 socios al año, que se traduce en más de 3.500 socios actuales, 20 grupos científicos y 1.000 inscritos a cada uno de nuestros congresos, promovemos la sociedad basada en el conocimiento

Pero no estamos solos...

LOS SOCIOS PROTECTORES CONTRIBUYEN AL PROGRESO DE LA **SEBBM**

asebio

BIO-RAD

CONTROLTECNICA

ependorf

Fisher Scientific
Part of Thermo Fisher Scientific



gsk
GlaxoSmithKline

M
MERCK MILLIPORE

PanReac
AppliChem
ITW Reagents

Promega

Roche

SIGMA
Life Science

VIAJES
El Corte Inglés

WALDNER

*Porque son de los nuestros**

* "Serán socios protectores aquellas entidades que quieran contribuir al sostenimiento y desarrollo de la SEBBM y sean aceptadas como tales. Tendrán categoría de socios, podrán participar y votar en las asambleas generales y recibir la misma información y publicaciones que los socios ordinarios (...)"

Más información sobre la figura de socio protector en:
sebbm@sebbm.es o llamando al 91 561 33 81

SEBBM
SEBBM

Sociedad Española
de Bioquímica
y Biología Molecular